

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y LA CONSERVACIÓN



**Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo de los suelos de
cuatro sitios de la Universidad Nacional de Agricultura**

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO EN GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RECURSOS NATURALES

Por:
Mirna Alejandra Ponce Fonseca

Catacamas, Olancho

Septiembre de 2025

**Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo de los suelos de
cuatro sitios de la Universidad Nacional de Agricultura**

Por:

Mirna Alejandra Ponce Fonseca

Carlos Roberto Irias Zelaya MSc

Director de Tesis

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO EN GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RECURSOS NATURALES

Catacamas, Olancho

Septiembre de 2025

DEDICATORIA

Para mi luz en la oscuridad,
mi refugio en la tempestad,
mi abrigo en la soledad,
mi fuerza inexorable y,
mi amor sempiterno.

-Mis padres

AGRADECIMIENTO

Primeramente, a Dios por siempre estar presente en mi vida, por darme fuerza en los momentos difíciles y guiarme en cada paso del camino.

A mis padres Mirna Cristina Fonseca Castro y José Ramon Ponce Salgado por su apoyo incondicional, que con su sacrificio y esfuerzo han sostenido mis sueños y me han enseñado que no existen límites para alcanzar lo que anhelamos en la vida siempre que nos esforcemos, seamos perseverantes, dedicados y pongamos el corazón en todo lo que hagamos.

A mis hermanos por su apoyo, su compañía, por estar siempre presentes en mi vida, por creer en mí y mis capacidades incluso más de lo que yo misma lo hago en ocasiones. A mis cuñadas y cuñado por su motivación, su apoyo, por estar presentes.

A mis sobrinos que son mi mas grande dolor de cabeza y a su vez mi más grande alegría, gracias por iluminar mis días y enseñarme a querer de la forma más tierna y pura.

A mis abuelos quienes han sido fuente de sabiduría y un ejemplo de vida, sus consejos, sus historias, nuestras charlas están gravadas en mi mente y corazón siempre.

A mis tíos por estar presentes en mi vida, por su cariño, sus consejos y palabras de aliento. A mis primos y primas por tener su capacidad de hacerme sonreír hasta en mis peores momentos,

A mis asesores por su paciencia y dedicación al guiarme en todo el proceso compartiendo sus conocimientos y tiempo. Especialmente la Dra. Nelys quien desde el primer momento me recibió en el laboratorio y me guio desde cero en un mundo que era desconocido para mí.

A mis niñas del cuarto 65, las adoptadas y allegadas por estar presentes en cada etapa, por hacerme reír en cada momento y por estar en los momentos difíciles, por cada desvelo, llanto risa y compartido. A mis amigos, compañeros y demás personas que de una u otra forma han me han apoyado, alentado y han sido parte de este proceso

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo General.....	3
2.2. Objetivos Específicos	3
III. HIPÓTESIS	4
IV. REVISION DE LITERATURA.....	5
4.1. Sistema agrícola Convencional	5
4.2. El Suelo	6
4.2.1. Factores que influyen en su formación	6
4.2.2. Importancia de la salud y fertilidad del suelo	9
4.2.3. Indicadores de la calidad del suelo	9
4.2.4. Microorganismos benéficos del suelo.....	10
4.2.5. Suelos de Honduras	11
4.3. El Fósforo	12
4.4. Agricultura Sostenible	13
4.5. Microorganismos Solubilizadores de Fósforo	14
V. MATERIALES Y MÉTODO	16
5.1. Ubicación del área de estudio.....	16
5.2. Materiales y equipo	17
5.3. Enfoque metodológico	17
5.4. Procedimiento metodológico.....	18

5.4.1. Fase I. Muestreo.....	18
5.4.2. Fase II. Aislamiento mediante el medio selectivo de Pikovskaya	18
19	
5.4.3. Fase III. Pruebas de Bioquímicas de Cepas.....	19
5.4.3.1. Catalasa	19
5.4.3.2. Oxidasa.....	19
5.4.3.3. Fermentación (Kligler).....	20
5.4.3.4. Morfología Celular: Tinción de gran	20
5.4.4. Fase IV. Pruebas de solubilidad	20
5.4.5. Fase V. Caracterización físico química del suelo	22
5.4.5.2. Determinación de carbono orgánico	22
5.4.6.5. Materia Orgánica.....	25
5.4.6.6. Textura	26
5.4.7. Fase VII. Análisis estadístico	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
6.3. Morfología Colonial de los microorganismos	32
6.4. Color presente en las colonias de microorganismos aislados.....	34
6.6. Pruebas de Fermentación de Kligler.....	38
6.7. Pruebas de Tinción de Gram	39
6.8. Solubilización de Fósforo en relación con el pH del medio.....	41
VII. CONCLUSIONES	46
VIII.RECOMENDACIONES	47
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS	59

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición del medio líquido de pikovskaya (Sánchez 2014),.....	21
Tabla 2. Caracterización físico-química del suelo por sitio muestreado	36
Tabla 3. Análisis descriptivo de microorganismos aislados por sitio de muestreo	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de sitios de muestreo de suelo para aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosforo en la Universidad Nacional de Agricultura.....	16
Figura 2. Diluciones seriadas (Fernández 2015).	19
Figura 3. Comparación de colonia, halo e índice de solubilización por sitio de muestreo	31
Figura 4. Forma de colonias de los microorganismos aislados por sitio de muestreo. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados.....	33
Figura 5. Diversidad de color de microorganismos aislados por sitio de muestreo. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados	34
Figura 6. Resultado de pruebas de catalasa y oxidasa de aislados por sitio muestreado. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba.....	36
Figura 7. Resultados de pruebas de Fermentación de Kigler de aislados por sitio. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba	38
Figura 8. Resultados de prueba de tinción de gram de aislados por sitio A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba	40
Figura 9. Solubilidad de fosforo y los valores de pH de los diferentes inóculos medidos en los días 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7. A) inoculo_1, B) inoculo_2; C) inoculo_3; D) inoculo_32; E) inoculo_42	52

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Microorganismos aislados	59
Anexo 2. Pruebas de catalasa y Oxidasa	59
Anexo 3. Pruebas de fermentación de Kligler.....	60
Anexo 4. Prueba de Tinción de Gram	60
Anexo 5. Recuento de UCF.....	70
Anexo 6. Pruebas de Solubilidad de fósforo	70

PONCE FONSECA, M.A. 2025. Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo de los suelos de cuatro sitios de la Universidad Nacional de Agricultura. Informe final de investigación Ing. Catacamas, Honduras. Universidad Nacional de Agricultura 71 p.

RESUMEN

La investigación se realizó en la Universidad Nacional de Agricultura (UNAG), ubicada en el municipio de Catacamas, Olancho, Honduras, con el propósito de aislar y evaluar microorganismos solubilizadores de fósforo en sitios con diferentes usos de suelo. La investigación se desarrolló mediante muestreos en sitios manejados bajo un sistema agrícola convencional destinadas al cultivo de hortalizas, granos y cereales, también se tomaron muestras dentro de un área sin intervención humana categorizada como sitio de importancia para la vida silvestre en la montaña y en área verde (pino), a los cuales se les realizaron análisis físico-químicos del suelo y el aislamiento se llevó a cabo utilizando el medio de cultivo de Pikovskaya, logrando aislar 41 cepas entre ellas 39 bacterias y 2 hongos, además, se realizaron pruebas bioquímicas (Catalasa, oxidasa, fermentación de Kligler, tinción de gram) y pruebas de solubilidad in vitro. Se midieron variables como halo, índice de solubilización, pH, UFC/ml, complementados con un análisis de datos descriptivo. Los resultados reflejaron una gran diversidad de microorganismos con capacidad para solubilizar fósforo, predominando microorganismos gram negativo, con catalasa y oxidasa positiva y con potencial para fermentar glucosa y lactosa, el área de cultivo de la montaña tiene mayor diversidad de microorganismos con un total de 16, mientras que el área de cultivo de granos y cereales presentó un menor número de microorganismos pero obtuvo el índice de solubilización más alto 36.58, con concentraciones de fósforo de 956.61mg/L y un pH de 4.99 a los 6 días de inoculación. En conclusión, los suelos de la Universidad Nacional de Agricultura poseen una diversidad de microorganismos solubilizadores de fósforo con potencial para el desarrollo y aplicación de biofertilizantes como estrategia para suplir el uso de fertilizantes sintéticos e impulsar prácticas agrícolas sostenibles.

Palabras Clave: Bacterias, Suelo, fósforo, biofertilizantes, colonias

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los nutrientes más necesarios y paradójicamente, más deficientes para los cultivos es el fósforo (P). A pesar de un relativo alto contenido de P total en la mayoría de los suelos, el 98% tienen una inadecuada cantidad de P disponible para la nutrición de las plantas, condición que induce deficiencias en distinto grado de severidad, con graves repercusiones en los niveles de productividad y rendimiento (Patiño & Sanclemente Reyes, 2014).

La carencia de fósforo ha llevado a los agricultores a la utilización de fertilizantes sintéticos, como una forma de abordar y dar solución a la situación, sin embargo, estos tienen una serie de impactos tanto sociales, económicos y ambientales, ya que tienen un alto costo, poca eficiencia, su uso inadecuado contamina el medio ambiente y pueden tener serias repercusiones en la salud humana.

Una de las alternativas que favorece la disponibilidad de las fracciones de fósforo es el uso de microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF) en el suelo (Cisneros R *et al.*, 2016). Los microorganismos ejercen un importante rol sobre los tres principales componentes del ciclo de P en el suelo: disolución-precipitación, sorción-desorción y mineralización-inmovilización; debido a ello tienen un papel determinante para la disponibilidad de este elemento para las plantas (Vargas-Barrante *et al.*, 2019).

Los microorganismos solubilizadores de fósforo incluyen principalmente hongos y bacterias que tienen la capacidad de transformar el fósforo insoluble en fósforo accesible y asimilable para las plantas. Estos microorganismos además de aumentar la disponibilidad de nutrientes, mejoran la estructura del suelo, su actividad biológica y fomentan un entorno más favorable.

La extracción de microorganismos puede representar desafíos, como una alta diversidad microbiana que puede dificultar la identificación y aislamiento de los microorganismos que se encuentran en condiciones extremas y riesgos de contaminación. A pesar de los retos, la extracción tiene beneficios como el hecho de estudiar y conocer la diversidad del suelo e influir en el desarrollo de prácticas agrícolas sostenibles. No obstante, también puede presentar desventajas tales como altos costos y tiempo.

El propósito de este trabajo fue el aislamiento y la evaluación de microorganismos capaces de solubilizar fósforo presentes en los suelos de la Universidad Nacional de Agricultura, realizando pruebas de solubilización *in vitro* que nos permitan identificar dichos microorganismos. También, se espera promover o impulsar prácticas más sostenibles en la producción agrícola, que den alternativas al uso de fertilizantes sintéticos

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Aislar y evaluar microorganismos solubilizadores de fósforo de los suelos de cuatro sitios de la Universidad Nacional de Agricultura

2.2.Objetivos Específicos

- Aislar microorganismos de diferentes usos de suelo de la Universidad Nacional de Agricultura, seleccionando los que muestran capacidad de solubilización de fósforo e identificando las cepas con mayor capacidad
- Realizar pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa, tinción de gram, fermentación de Kligler) y pruebas de solubilidad de fósforo in vitro a los microorganismos aislados
- Caracterizar propiedades físico-químicas (pH, materia orgánica, carbono orgánico, textura) del suelo de los distintos sitios muestreados de la Universidad Nacional de Agricultura.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H_0)

No existen diferencias significativas en la capacidad de solubilización de fósforo de los microorganismos aislados de los diferentes suelos muestreados de la Universidad Nacional de Agricultura

Hipótesis Alternativa

Existen diferencias significativas en la presencia, diversidad y capacidad de solubilizar fosforo de los microorganismos aislados de los diferentes suelos muestreados de la Universidad Nacional de Agricultura

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1. Sistema agrícola Convencional

La agricultura atravesó diversas revoluciones agrícolas, las cuales tenían como propósito minimizar limitaciones ambientales y la necesidad de trabajo. A partir de la década de 1950, fue el período en el que la agricultura moderna se desarrolló significativamente centrándose en un enfoque tecnológico que se enfatizó en el uso de la mecanización, fertilizantes minerales altamente solubles y pesticidas, el cual es conocido como la revolución verde. Periodo que genero un avance el desarrollo agrícola, aunque a su vez provoco impactos en el medio ambiente (Rosset et al., 2014).

Con todo y lo anterior se puede decir que la agricultura convencional se considera como un sistema de producción intensivo que utiliza tecnologías a gran escala para tener una mayor explotación de los medios de producción, lo que implica un alto consumo de combustible fósiles los cuales son elementos que permiten aumentar la productividad del sistema (Gràcia, 2021). Además, se hace uso de sustancias químicas sintéticas de manera parcial o total, lo que contribuye a que sea un sistema altamente artificial basado en un alto consumo de insumos externos sin tomar en cuenta los ciclos naturales (Arce, 2020).

Como consecuencia, la actividad agrícola y ganadera provoca efectos negativos significativos en los ecosistemas, incluyendo riesgos para la salud por residuos tóxicos, escasez de agua, y resistencias en plagas a pesticidas. También se observa pérdida de polinizadores y hábitats naturales, así como una reducción de la diversidad genética debido a la uniformidad de cultivos. Además, la degradación del suelo por erosión, compactación y pérdida de materia orgánica afecta la productividad y la retención de agua, contribuyendo al deterioro del medio ambiente (Proyecto Life Sinergia, 2017).

Además, los desequilibrios sociales y ambientales, junto con el aumento de la pobreza y la marginación, han desafiado el modelo de desarrollo que prioriza el crecimiento económico. Esta crisis afecta especialmente a las comunidades rurales y al sector agrícola, que se ha convertido en una fuente de degradación del agroecosistema, evidenciada por el deterioro del suelo, la contaminación del aire y del agua, y la pérdida de biodiversidad. La agronomía convencional no logra abordar de manera efectiva estos problemas, que incluyen el hambre, la pobreza y la degradación ambiental.(Martínez, 2005).

4.2. El Suelo

El suelo es un recurso natural no renovable, caracterizado por ser un sistema complejo, heterogéneo, con niveles variables de materia orgánica (MO) y minerales, los cuales constituyen la matriz del suelo, facilitando el flujo y retención de aire y agua, los cuales se mueven en los poros. Además, el suelo posee una población activa de microorganismos (bacterias, hongos, algas etc.), insectos y fauna con un relevante rol en la génesis del suelo, crecimiento vegetal y el ciclo del carbono (Vistoso; Martínez, 2022).

4.2.1. Factores que influyen en su formación

El proceso de formación del suelo de acuerdo con Figueroa *et al* (2018) está establecido por la interacción de seis factores que permiten su formación que son: clima, organismos, topografía, material parental, tiempo y uso, la magnitud de cualquiera de las propiedades del suelo está influenciada por la acción o interacciones de estos factores.

4.2.1.1.El Clima

Es probablemente el factor más influyente en la formación del suelo, debido a que afecta directamente a los demás factores. Su impacto sobre el material parental es que definen la naturaleza y la intensidad de los procesos de meteorización que tienen lugar en extensas áreas

geográficas. Además, influye en los organismos vivos y, en cierta medida, en el relieve y la edad del suelo, a través de su conexión con los procesos de erosión y deposición de materiales. Dentro de los elementos climáticos más importantes relacionados con las propiedades del suelo se encuentran la efectiva y la temperatura, ya que ambos influyen en la velocidad de los procesos físicos, químicos y biológicos (Sanzano, 2019).

4.2.1.2. Organismos

Estos tienen una influencia, pueden tener orígenes distintos, diferenciándose entre aquellos de origen vegetal, como las plantas, y los de origen animal, que incluyen vertebrados, invertebrados y microorganismos. La vegetación desempeña un papel fundamental en determinar las características morfológicas del suelo, así como algunas de sus propiedades físicas y químicas, como la meteorización de las rocas, la incorporación de materia orgánica y los procesos hidrológicos, etc. Por su parte, los organismos de origen animal contribuyen a procesos físicos y químicos importantes, como la descomposición y el aporte de materia orgánica y la redistribución de partículas dentro del suelo (Blanco & Senciales, 2001).

4.2.1.3. Topografía

La topografía, que se refiere a la configuración de la superficie terrestre, se describe en términos de elevaciones relativas, pendientes y ubicaciones dentro del paisaje de pequeñas áreas, lo que puede generar variaciones significativas en los suelos presentes en ellas. Este factor juega un papel clave en la recepción efectiva, ya que afecta considerablemente el equilibrio entre infiltración y escurrimiento (Sanzano, 2019). La topografía está descrita en cuatro categorías: La geoforma principal, que se refiere a la morfología de todo el paisaje; la posición del sitio dentro del paisaje; la forma de la pendiente; el ángulo de la pendiente (FAO, 2009).

4.2.1.4. Material parental

El suelo se origina a partir de la transformación de una o varias rocas conocidas como roca madre o material parental. El término "roca madre" se refiere a la roca de la que se deriva el suelo, mientras que "material parental" tiene un significado más extenso, ya que representa

el estado inicial del suelo, es decir, desde el punto cero de su formación. Este concepto incluye no solo la roca consolidada que puede dar lugar al suelo, sino también una roca ya meteorizada (saprolita), una roca no consolidada (regolita) o incluso un suelo previo que comienza a desarrollarse bajo nuevas condiciones del medio (Bienes, 2009).

4.2.1.5. Tiempo

Los suelos son sistemas dinámicos, están en constante transformación. Algunas de sus propiedades, como la temperatura y el contenido de humedad, cambian de forma perceptible a lo largo del día. Sin embargo, los procesos de formación del suelo, conocidos como edafogénéticos, ocurren en escalas de tiempo muy prolongados, por lo que sus transformaciones no son cambios no con visibles a escala humana. Además, el desarrollo del suelo atraviesa distintas etapas: primero la juventud, seguida por la madurez y, finalmente, la vejez (Bienes, 2009).

4.2.1.6. Uso

El uso de la tierra se refiere a cómo se utiliza actualmente el terreno ya sea para fines agrícolas o no. Este uso tiene una gran influencia en la dirección y velocidad de la formación del suelo, y su registro mejora significativamente la interpretación del valor de los datos del suelo. En el caso de tierras agrícolas, es importante especificar los tipos de cultivos que se siembran, así como brindar toda la información disponible sobre el manejo del suelo, el uso de fertilizantes, la duración de los períodos de descanso, los sistemas de rotación (FAO, 2009).

4.2.2. Importancia de la salud y fertilidad del suelo

En relación con la salud del suelo (Geisseler, 2022) considera que es la capacidad continua de este para funcionar como ecosistema vital. Considera características físicas, químicas y biológicas del suelo, que actúan en forma interdependiente, así un suelo de calidad es un suelo rico en materia orgánica, que permite tener una mayor actividad biológica y una mejor estructura, facilitando la aireación y el almacenaje del agua.

Se debe agregar que la salud del suelo es de gran importancia para obtener cultivos con un rendimiento elevado y que permitan cosechar productos de alta calidad. Son diversos los factores que determinan que un suelo sano presente una mayor resiliencia a ciertas limitaciones, como las plagas y las enfermedades. Un suelo resiliente es aquel capaz de mantener o recuperar su condición de suelo sano como respuesta a estas limitaciones (Houben & Brinks, 2020).

En cuanto la fertilidad del Suelo, es una cualidad resultante de la interacción entre las características físicas, químicas y biológicas del mismo y que consiste en la capacidad de poder suministrar condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de las plantas.(Javier Sánchez s.f.). La fertilidad de un suelo depende principalmente de su contenido en materia orgánica, de su textura y material parental. A mayor contenido de materia orgánica más fértil es el suelo, ya que es a partir de ella que los microorganismos que viven en el suelo liberan elementos nutritivos para las plantas (INIA, 2015).

4.2.3. Indicadores de la calidad del suelo

Según Cartes, (2013) los indicadores de la calidad del suelo pueden ser cuantificada a través de varias de sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las cuales permiten el seguimiento de los cambios en el estado del suelo a mediano y largo plazo.

En cuanto a los indicadores físicos el modelo convencional adoptado en el ámbito agrícola, que sostiene la práctica de los monocultivos y las praderas, se basa en la aplicación de fertilizantes para lograr rendimientos económicamente rentables. El uso de fertilizantes tanto para la producción como para la corrección provoca alteraciones químicas en la capa superficial del suelo.

Con respecto a los indicadores químicos, el modelo tradicional empleado en la agricultura, orientado a establecer monocultivos y praderas, se apoya en el uso de fertilizantes para alcanzar rendimientos económicamente rentables. La aplicación de fertilizantes, tanto para la producción como para la corrección, genera transformaciones.

Un factor crucial para evaluar la calidad del suelo es su contenido de materia orgánica (MO), la cual está relacionada con diversas propiedades físicas, químicas y biológicas. La materia orgánica se considera un indicador importante para valorar la calidad del suelo en sistemas productivos. Su cantidad se ve afectada por la aplicación de fertilizantes químicos y materiales orgánicos, los cuales favorecen los procesos biológicos de separación y mineralización de la materia orgánica del suelo. La materia orgánica es importante, ya que ayuda a estabilizar los agregados formados por la interacción de las partículas minerales.

4.2.4. Microorganismos benéficos del suelo

Los microorganismos se encuentran en todas partes, y en especial en el suelo, donde convergen diferentes sustratos, gases, agua y sustancias vegetales que favorecen su desarrollo y establecimiento. Participan en la mineralización de los materiales orgánicos, aportando los compuestos inorgánicos asimilables por las plantas superiores; contribuyen a la continua descomposición, mineralización y humificación de la materia orgánica, asegurando el secuestro de carbono en el suelo (ANACAFÉ, 2004).

Por otro lado, Iván Cruz-Cárdenas et al (2021) afirma que las comunidades microbianas en los suelos conducen entre el 80 y 90% de los procesos biológicos desarrollados en el suelo

Las actividades microbianas son determinantes de la ganancia o pérdida de fertilidad de los suelos y también de la velocidad con que se puede restaurar un suelo deteriorado, y si es que, en efecto, puede restaurarse (Soria, 2016).

Además, Jimenez et al., (2023) menciona que en los últimos años ha habido un interés creciente en los microorganismos benéficos del suelo, ya que pueden promover el crecimiento de las plantas y en algunos casos también evitar la infección por parte de algunas enfermedades. El uso de microorganismos benéficos también puede ayudar a disminuir el uso de fertilizantes químicos como una respuesta a una agricultura más sostenible.

Un ejemplo sería el trabajo realizado por (Rojas & Vásquez, 2021) con el objetivo buscar bacterias endofíticas solubilizadoras de fósforo en la variedad de café bourbon y su evaluación en la promoción de crecimiento. Los resultados mostraron que el café tiene bacterias endofíticas solubilizadoras de fósforo, de las cuales se obtuvieron 18 cepas. Se concluyó que el café variedad Borbón tiene microorganismos solubilizadores de fósforo con hábito endofítica y capacidad de estimular las plantas de café en su crecimiento, estos resultados generan grandes expectativas para la utilización de las cepas como biofertilizante.

4.2.5. Suelos de Honduras

Honduras cuenta con amplias áreas de suelos poco profundos, cuya formación y características están influenciadas principalmente por la roca madre (FAO, 1969). Aunque la vocación natural de estas tierras es mayormente forestal, el patrón agrícola de la población ha llevado a que alrededor del 70% de los cultivos anuales, más del 60% de los cultivos perennes y entre el 40% y 45% de la ganadería extensiva. se establecen en suelos destinados originalmente a bosques (Soria A, 2015).

El uso intensivo e inadecuado de estas tierras a lo largo de los años ha provocado que predominen suelos inestables con altos niveles de erosión. Más del 60% de estos terrenos están en riesgo de gradientes, y únicamente el 15% del territorio nacional es considerado apto

para actividades agrícolas. En este contexto, la principal problemática relacionada con los suelos en Honduras radica en su degradación y pérdida, resultado de la deforestación descontrolada, el cultivo y el pastoreo en terrenos con fuertes pendientes o en áreas húmedas no aptas para estas actividades (Soria A, 2015)

A nivel nacional, los departamentos con los porcentajes más altos de suelos con bajos niveles de materia orgánica son Valle (100%), Choluteca (96%) y Atlántida (92%). En cuanto al fósforo, los suelos con menor contenido de este nutriente se encuentran en los departamentos de Colón (91%), Lempira (90%), Ocotepeque (86%) e Intibucá (85%). Por otro lado, los niveles más bajos de potasio se registran en los departamentos de Gracias a Dios (100%), Colón (95%) y Atlántida (89%) (SEPLAN, 2013)

4.3. El Fósforo

El fósforo (P) es uno de los principales macronutrientes esenciales requeridos por todos los organismos vivos, pero también es uno de los elementos menos disponibles de la rizósfera. Después del nitrógeno (N), el P es el nutrimento más limitante para el crecimiento de las plantas (Mixquititla & Villegas, 2016)

Por otro lado, es un macronutriente que forma parte de las nucleoproteínas, lipoides y fosfolípidos; desempeña un importante papel metabólico en la respiración y fotosíntesis (fosforilación), en el almacenamiento y transferencia de energía (NAD, NADP y ATP) y en la división y crecimiento celular. El P se acumula en partes de la planta en crecimiento y en las semillas; es determinante para el desarrollo de las raíces y de los tejidos meristemáticos (Becerra et al., 2007)

En lo que respecta a la disponibilidad de fósforo a pesar de que este es uno de los diecinueve elementos considerados como esenciales para la vida de las plantas. En lo que respecta al sistema suelo-planta, el 90 % del fósforo está en el suelo y menos del 10 % se encuentra repartido fuera del suelo. Sin embargo, sólo una pequeña parte de ese 90 % es utilizable por

los vegetales. A diferencia otros elementos, el fósforo disponible en el suelo es insuficiente para los vegetales y esta deficiencia sólo se ha atenuado con la aplicación de fertilizantes fosforados (Fernández, 2007).

Con el propósito de suplir las necesidades de P en el suelo para el desarrollo de un cultivo se emplean fertilizantes fosfatados. Los cuales se obtienen a partir de la roca fosfórica compuesta prácticamente por todos los elementos químicos de la tabla periódica (Bastidas & Muñoz, 2011).

Hay que mencionar que los fosfatos de roca sedimentaria se utilizan para el 87% de la producción de fertilizantes minerales de P. Contienen mayores concentraciones de cadmio (Cd) y uranio (U) en comparación con los fosfatos de roca leñosa, que contienen relativamente más elementos como el titanio. En el proceso de producción de fertilizantes, entre el 60% y el 80% del Cd y la mayor parte del U de los fosfatos de roca se transfieren al producto final. (Bergen et al, 2022).

Por otro lado, Bonomelli et al (2003) mencionaba que la presencia de Cd en los suelos y el riesgo de ingreso de este elemento a la cadena alimenticia, ha generado mundialmente una preocupación creciente, debido al efecto tóxico de este elemento en humanos y animales. En suelos agrícolas, las principales fuentes de Cd provienen de la fertilización fosforada, uso de lodos y residuos industriales

4.4. Agricultura Sostenible

La agricultura sostenible según Ulibarry, (2023) se entiende como “aquella que garantiza la satisfacción de las necesidades nutricionales básicas de las generaciones actuales y futuras, y aporta diversos beneficios económicos, sociales y ambientales”. La agricultura sostenible significa cultivar de forma en que se preserve la salud de la gente y de la tierra a largo plazo. Los agricultores que aplican métodos sostenibles tratan de producir los alimentos nutritivos que sus familias y la comunidad necesitan y al mismo tiempo conservar el agua, mejorar los

suelos y guardar las semillas para el futuro (Conan; Fadem, 2011).

La agricultura sostenible surge como respuesta a la necesidad de crear sistemas agrícolas alternativos que se alineen mejor con las exigencias de la sociedad actual, la cual requiere métodos de producción menos perjudiciales para el medio ambiente y que, además, sean social y económicamente aceptables. Las técnicas utilizadas en la agricultura sostenible no siempre son novedosas, en muchos casos, se implementan métodos antiguos de manera más eficiente; en otros, se incorporan nuevas técnicas junto con las tradicionales; y también, se realiza una revisión completa de los métodos de producción (Quintana & Estrada, 1994).

4.5. Microorganismos Solubilizadores de Fósforo

La acción de los microorganismos solubilizadores de fosfato es esencial para facilitar la adquisición del nutriente por parte de las plantas (Beltrán, 2014). Los organismos involucrados en las transformaciones del P en el suelo incluyen bacterias, hongos, cromista, protozoos y algunos nematodos (Patiño & Sanclemente, 2014)

En relación a las bacterias existen 13 géneros con la capacidad de solubilizar fosfato: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Erwinia* (Paredes & Espinosa, 2010). Por su parte dentro de los hongos se encuentran principalmente los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp, pero se reportan más (Pulido & Niño, 2015).

En cuanto a los mecanismos involucrados en la solubilización- mineralización microbiana de las diferentes formas de fosfato insoluble incluyen procesos de acidificación, quelación, reacciones de intercambio, producción de ácidos y acción enzimática en los que se destacan las BSF por su eficiencia en el proceso. Lara, 2011 Señala incrementos en la biodisponibilidad de P en el suelo cuando existen aumentos en la actividad microbiana.

La producción de ácidos orgánicos es el mecanismo más usado por las poblaciones microbianas para solubilizar el fósforo, los cuales actúan sobre formas insolubles, fósforo tricálcico, fósforo dicálcico, hidroxiapatita y roca fosfórica. Los ácidos orgánicos permiten que haya solubilización debido a que la presencia de estos implica un descenso en el pH hasta valores aproximados a 2; valores necesarios para que se pueda llevar a cabo la solubilización. La producción de ácidos orgánicos a partir de la fermentación de la glucosa da como resultado la acidificación de las células y sus alrededores (Lara, 2011)

V. MATERIALES Y MÉTODO

5.1. Ubicación del área de estudio

Ubicación De Sitios De Muestreo En La Universidad Nacional De Agricultura

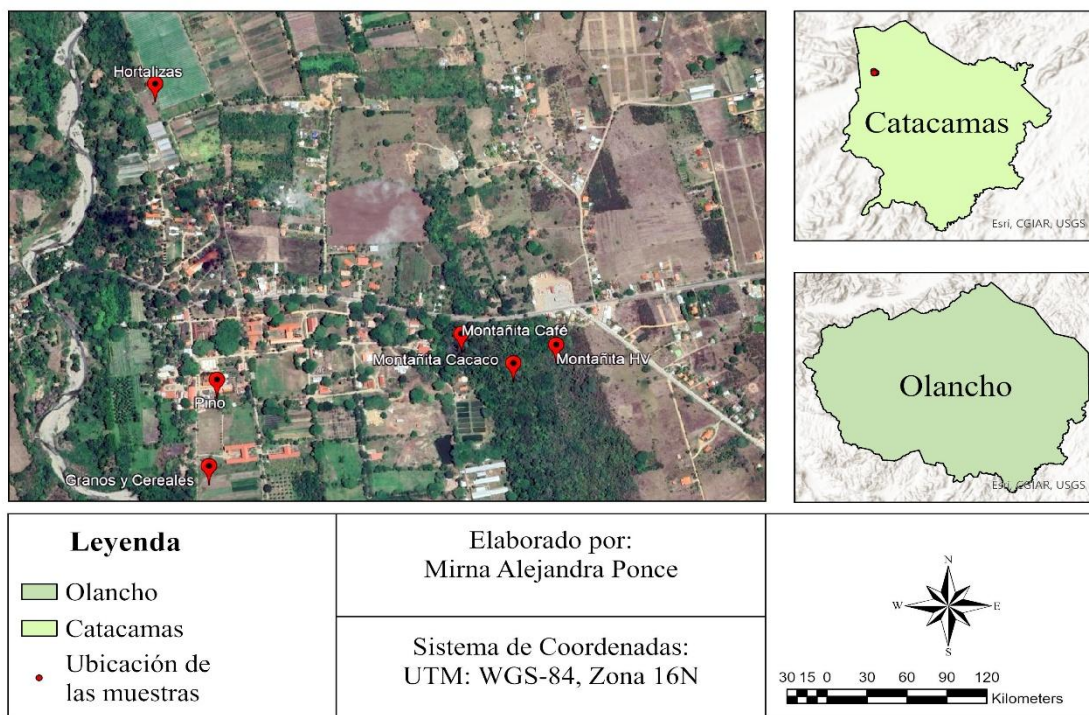


Figura 1. Ubicación de sitios de muestreo de suelo para aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosforo en la Universidad Nacional de Agricultura.

La investigación se realizó en la Universidad Nacional de Agricultura ubicado en el municipio de Catacamas, departamento de Olancho, Honduras. Las áreas específicas seleccionadas dentro del campus fueron cuatro (Figura 1), a las cuales además del aislamiento de microorganismos se le realizaron análisis físico-químicos del suelo (Tabla 1). Entre los sitios muestreados esta la montañita la cual se encuentra dentro de la categoría de sitio de

importancia para la vida silvestre, siendo un área natural es reconocida por su relevancia para la conservación de la biodiversidad y conservación de especies claves de fauna y flora. Por ese motivo en esa área se tomaron tres muestras.

Seguidamente se muestrearon áreas destinadas cultivo de hortalizas, granos y cereales dedicada a la producción de maíz, arroz, frijol, manejadas bajo un sistema agrícola convencional haciendo uso de fertilizantes químicos, pesticidas y prácticas de mecanización. También, se tomó una muestra en un área verde, junto a un árbol de pino ubicado dentro de la universidad.

5.2. Materiales y equipo

En lo que respecta al equipo para el muestreo se necesitó el barreno, bolsas plásticas ziploc, GPS, cinta métrica, alcohol. En cuanto, a los materiales y equipo para el aislamiento se necesitó incubadora, autoclave, agitador, microscopio, agua estéril, placas Petri, matraz Erlenmeyer, tubos de ensayo, guantes, medios de cultivo, calibrador de Vernier.

5.3. Enfoque metodológico

La investigación se realizó mediante un enfoque cuantitativo para el aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo, este se basó en técnicas que no solamente permiten el aislamiento y la evaluación de estos microorganismos, sino también la cuantificación de su capacidad para solubilizar fósforo. Este enfoque fue fundamental para evaluar la eficiencia de los microorganismos en la liberación de fósforo de fuentes insolubles.

5.4. Procedimiento metodológico

5.4.1. Fase I. Muestreo

El muestreo de suelo se realizó al azar, tomando submuestras a una profundidad de 0 a 5 cm, tanto en el área de Hortalizas, granos y cereales, la montañita y rizosfera de un pino de la Universidad Nacional de Agricultura (Figura 1). Las muestras se depositaron en bolsas plásticas con su debida etiqueta, inmediatamente se trasladaron al laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Agricultura, para su respectivo procesamiento, la otra parte de la muestra se trasladó al laboratorio de suelos agrícolas de la UNAG para la caracterización físico química.

5.4.2. Fase II. Aislamiento mediante el medio selectivo de Pikovskaya

Se preparó el medio de Pikovskaya (agar) disolviendo 31.3 g en 1000 ml de agua destilada, agitando para evitar grumos y se calentó hasta su completa disolución. La mezcla base se esterilizó en la autoclave durante 15 min a 121 °C (Hernández et al, 2011)

Para la inoculación; se tomaron 10g de suelo y se disolvieron en 90 ml de agua peptonada estéril. La mezcla se colocó en un agitador magnético durante 30 minutos para realizar la inoculación la cual consistió en realizar las diluciones para ello se extrajo 1 ml de la suspensión y se disolvió en 9 ml de agua destilada estéril, realizando diluciones dobles consecutivas (figura 2) (V. Fernández, 2015). Por cada dilución se realizó la siembra colocando un ml de la misma en la placa Petri y después agregar suficiente medio para cubrir la placa las cuales se incubaron durante 5 a 7 días a 32 °C (Karunarathna, 2023).

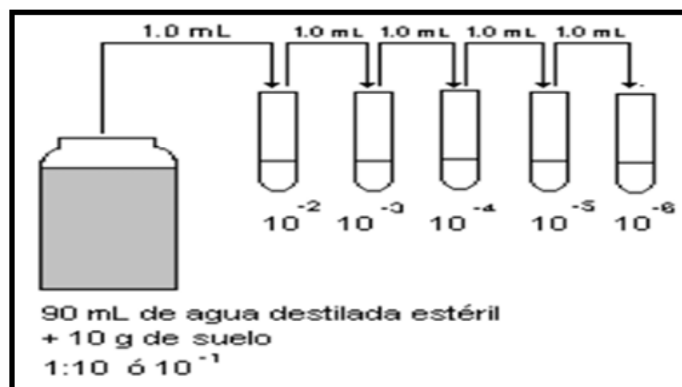


Figura 2. Diluciones seriadas (Fernández, 2015).

Posteriormente, a las colonias que produjeron halo se les midió diámetro del mismo y el diámetro de la colonia utilizando un calibrador de Vernier, se sembraron en agar nutriente, para lo cual se tomaron 28.0 g y se disolvieron en 1000 ml de agua destilada, el agar se distribuyó en las placas Petri hasta su solidificación, de cada colonia con halo transparente se tomó una porción con un asa y se froto sobre la superficie del agar en forma de estría

5.4.3. Fase III. Pruebas Bioquímicas a las cepas

5.4.3.1. Catalasa

En un portaobjetos se depositaron una o dos gotas de agua oxigenada al 30%. Con un asa de siembra se transfirió una porción del hongo o bacteria del centro de la colonia de los microorganismos aislados. Al observarse la formación inmediata de una efervescencia o burbujas el resultado es positivo en el caso contrario fue negativo (Corrales Ramírez et al, 2022) .

5.4.3.2.Oxidasa

Se utilizaron tiras reactivas de oxidasa para realizar la prueba, se transfirió una porción de la colonia de los microorganismos aislados, esparciéndolos con un palillo estéril por la zona

reactiva de la tira. La aparición de una coloración morada en la zona durante los primeros 30 segundos indicaron un resultado positivo, lo contrario, la ausencia de color se interpretó como un resultado negativo a oxidasa

5.4.3.3. Fermentación (Kligler)

Se preparo y esterilizó el medio de agar de hierro de Klingler y se distribuyó en cada tubo de ensayo, se esterilizarlo y una vez solidos se sembraron los microorganismos tomando parte de ellos con un asa recta hasta tocar el fondo del tubo (zona anaeróbica) y posteriormente haciendo estrías en la superficie del slat (zona aeróbica). Finalmente, se incubaron a una temperatura de 28 °C de 18 a 24 horas.

5.4.3.4. Morfología Celular: Tinción de gran

Después del aislamiento se realizó un frotis con cada cepa en un porta objetos y posteriormente se cubrió el frotis con cristal violeta durante un minuto. Luego se lavó con agua para eliminar exceso de colorante, después se cubrió nuevamente con Lugol durante un minuto. Posteriormente, se lavó y se colocó alcohol-acetona por cinco segundos para lavar nuevamente y finalmente se cubrió el frotis con safranina durante un minuto como colorante de contraste. Las bacterias Gram positivas se tiñen de color violeta intenso, y las negativas de color rosado. Cada prueba fue observada bajo el microscopio a 100X (Guevara et al, 2017).

5.4.4. Fase IV. Pruebas de solubilidad

Se evaluó la actividad de solubilización de los microorganismos seleccionados cultivados en medio líquido de Pikovskaya, para ello se preparó completamente mezclando los diferentes reactivos (Ver cuadro 1), una vez mezclados se agitaron hasta su disolución, el pH se regulo a 6.59 al agregar NaOH.

Tabla 1. Composición del medio líquido de pikovskaya (Sánchez 2014)

Reactivo	G/L
Glucosa	10
Fosfato de calcio	5.0
Sulfato de amonio	5.0
Cloruro de potasio	0.2
Sulfato de magnesio	0.1
Sulfato de manganeso	0.0001
Sulfato ferroso	0.0001
Extracto de levadura	0.5

Al tener el medio preparado se tomó 130 ml del medio de cultivo en 19 matraces y se esterilizaron en la autoclave por 15 minutos a una temperatura de 121 °C. En 3 de ellos se prepararon los inóculos agregando media placa del microorganismo y dejándolo en agitación constante por tres días, posteriormente a los 16 matraces restantes se les agregó 15 ml del inóculo y se incubaron a 30°C por 7 días con agitación constante (120 rpm). Tomando dos inóculos cada día para filtrar y medir las siguientes variables

Fósforo soluble: se determinó la concentración de fósforo liberado de algunas cepas mediante espectrofotometría UV-Vis (Método de molibdato de amonio), el cual mide el fósforo soluble como complejo fosfomolibdato. Para ello se realizaron diluciones de 10 y 100 de los inóculos, una vez realizadas las diluciones, se transfirieron 2ml de dicha dilución previamente filtrado y 25 de reactivo de molibdato y tartarato de amonio con ácido ascórbico. Se dejó reposar por una hora y se tomaron lecturas a 650 nm

Para determinar el pH, se tomaron ciertas proporciones de los inóculos y se les midió el pH con un peachímetro previamente calibrado. También se midieron los Grados Brix: con el refractómetro, se tomaron unas gotas del inóculo y se colocaron en el prisma, se bajó la placa de cubierta y se observó por el ocular los grados brix que tenían.

Unidades Formadoras de Colonias (UFC): Se extrajo 1 ml del inóculo y se disolvió en 9 ml de agua destilada estéril, realizando diluciones hasta 10^{-5} y 10^{-9} figura 2 (Fernández, 2015). Por cada dilución se iba realizando la siembra colocando 1 ml de la misma en la placa Petri y después agregar suficiente medio para cubrir las placas las cuales se incubaron durante 5 a 7 días a 32 °C (Karunarathna, 2023).

5.4.5. Fase V. Caracterización físico química del suelo

5.4.5.1. Determinación del pH en agua relación 1:2.5

Para la determinación del pH (SSSA, 1996), se llevó a cabo el siguiente procedimiento de pH en agua relación 1:2.5. Primero, se pesaron 10 gramos de suelo previamente secado al aire y tamizado con una malla de 2.00 mm y estos fueron colocados en Beaker de plástico de 50 ml. A continuación, se agregaron 25 ml de agua desionizada y se mezclaron bien con el suelo. Para la agitación, se utilizó una varilla de vidrio, teniendo mucho cuidado para minimizar cualquier posible contaminación. Esta se dejó en reposo durante 120 minutos.

El pH-metro se calibró utilizando soluciones tampón con valores de pH 4.0, 7.0 y 10. Después, se agitó la suspensión en el Beaker y se introdujo el electrodo del pH-metro en el sobrenadante transparente por encima del suelo, directamente en el suelo de sedimentos, o toda la suspensión se agitaría durante la determinación de pH. Fue fundamental realizar las mediciones de manera consistente para obtener resultados confiables. Finalmente, se procedió a leer y registrar el valor del pH, enjuagando el electrodo entre cada muestra.

5.4.5.2. Determinación de carbono orgánico

Para determinar el carbono orgánico del suelo según Walkley & Black, (1934), se pesó 1.00 g de la muestra seca y tamizada a 2.00 mm y se depositó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Posteriormente, se agregó 10 ml de una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 0.167 M (1 N) y se agitó suavemente para integrar completamente con el suelo, posterior, se

añadieron 20 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. La mezcla se agito suavemente hasta que el suelo y el reactivo se integren. Una vez homogeneizada, se dejó reposar en una campana de extracción de gas por 30 minutos.

Pasado el tiempo se agregaron 200 ml de agua destilada al matraz Erlenmeyer. Seguidamente, se agregaron 3 o 4 gotas de un indicador de ferroína 0.025 M y se tituló la solución utilizando sulfato ferroso 0.5 M (0.5 N). El punto final fue aproximado, la solución tomo un tinte verdoso y después cambio a verde oscuro, momento en el cual se agregó el sulfato ferroso gota a gota hasta que el color de la solución paso de azul a marrón (un color rojo que pudo observarse titulando a contraluz utilizando fondo blanco). Además, se tituló un blanco siguiendo el mismo procedimiento que la muestra, pero sin suelo, con el fin de estandarizar el dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

5.4.5.3. Determinación de Textura

Para determinar la textura del suelo basándose en la metodología de (Klute A, 1986), se pesaron 60 gramos de la muestra, se colocaron en el horno durante al menos 6 horas a una temperatura entre 75-80 °C. Tras el secado, se dejó enfriar la muestra y se pesaron 50 gramos, los cuales se transfirieron a un Beaker de 250 ml, agregando 100 ml de agua desionizada y 10 ml de solución de hexametáfosfato de sodio para inducir la dispersión química, y se dejaron reposar en el frasco durante 12 horas. Pasado este tiempo, la mezcla se vertió en un recipiente y se dejó en agitadores por 10 minutos.

Se transfirió la mezcla a un cilindro de vidrio aforado a 1000 ml, seguidamente se agitó el cilindro durante 1 minuto. Después se colocó el cilindro sobre una mesa y se introdujo cuidadosamente el hidrómetro para realizar la primera lectura a los 40 segundos, cuando se generó espuma, se utilizó alcohol etílico para dispersarla y tener mejor claridad. Una vez realizada la lectura, se retiró el hidrómetro de la suspensión y se enjuago adecuadamente durante cada lectura. Además, se registró la temperatura con el termómetro. Finalmente, dos horas después de la primera lectura (después de los 40 segundos), se tomó una segunda lectura.

5.4.6. Fase VI. Variables Evaluadas

5.4.6.1. Índice de Solubilización

Según el procedimiento realizado en el ítem 5.4.2 en el cual se midió el halo y colonia para obtener el índice de solubilización mediante la fórmula que sugiere (Mayadunna et al, 2023):

$$\text{Índice de solubilización} = \frac{\text{Diámetro de la colonia} + \text{Diámetro del halo}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

5.4.6.2. Concentración de Fósforo Soluble

Espectrofotometría UV-Vis (Método de molibdato de amonio)

5.4.6.3. Unidades Formadoras de Colonias UFC

De igual manera en el ítem 5.4.4 se abordan los pasos para obtener las UFC, para ello se utilizó la formula:

$$\text{UFC/ml} = \frac{\text{Nº de colonias} \times \text{factor de dilución}}{\text{Volumen sembrado (ml)}}$$

5.4.6.4. pH

En el ítem 5.4.4 se describe el procedimiento de las pruebas de solubilización también, se describe la medición del pH de los inóculos y el pH del suelo haciendo uso de peachímetro como se describe en el ítem 5.4.5.1, el dato que se tomó fue el de la última lectura.

5.4.6.5. Carbono orgánico

En cuanto al ítem 5.4.5.2 se encuentra el procedimiento para realizar materia orgánica, procedimiento por el cual también se calculó carbono orgánico, utilizando la formula:

$$CO\% = \frac{(V_{blanco} - V_{Muestra}) \times M_{Fe^{2+}} \times 0.003 \times 100 \times f}{w}$$

Donde:

CO% = porcentaje de carbono orgánico

V_{blanco} = volumen de titulante utilizado en el blanco, mL

$V_{muestra}$ = volumen de titulante utilizado en la muestra, mL

$M_{Fe^{2+}}$ = concentración de solución estandarizada de $FeSO_4$, molaridad

$$M_{Fe^{2+}} = \frac{mL \text{ de } K_2Cr_2O_7 \text{ usados para titular}}{mL \text{ de } FeSO_4 \text{ gastados en el blanco}}$$

0.003 = carbono oxidado

f = factor d corrección, 1.3

W = peso de suelo, g

5.4.6.6. Materia Orgánica

Con respecto al ítem 5.4.5.2 sobre el procedimiento para realizar materia orgánica, la fórmula utilizada para calcularla fue:

$$\% \text{ Materia Orgánica} = \% \text{ carbono orgánico} \times 1.724$$

Donde;

(100/58=1.724) la materia orgánica tiene 58% de carbono,

5.4.6.7. Textura

En lo que concierne al ítem 5.4.5.3 se observa el procedimiento para hacer textura, en la cual se determinó el porcentaje de arena, limo y arcilla mediante las siguientes formulas:

$$\% \text{ Arena} = 100 - \left[\left(\frac{1^{\text{era}} \text{ lectura corregida}}{\text{peso de ma muestra}} \right) \times 100 \right]$$

$$\% \text{ Arcilla} = \left[\frac{2^{\text{da}} \text{ lectura corregida}}{\text{peso de la muestra}} \right] \times 100$$

$$\% \text{ limo} = 100 - [\% \text{ Arena} + \% \text{ Arcilla}]$$

5.4.7. Fase VII. Análisis estadístico

Una vez se realizó la toma de datos, se procedió a realizar el análisis estadístico el cual consistió en un análisis descriptivo en cuanto a las cepas, colonias halos e índice de solubilidad por sitio de muestreo, además de gráficas y tablas representativas de los resultados de las distintas pruebas realizadas por medio del análisis ANOVA para determinar si existen diferencias significativas de los microorganismos solubilizadores de fosforo aislados en ambas áreas. También se utilizará prueba de Tukey al 5%, para la separación de medias (Vargas-Barrante et al, 2019).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización físico-química del suelo

En la Tabla 3, se observan los parámetros físicos químicos de los suelos en estudio, en cuanto al área destinada al cultivo de hortalizas el suelo es franco arenoso con 78% de arena, 19.2% de arcilla y 2.8% de limo. Tiene un pH de 6.94, el carbono orgánico es bajo con 1.8% y un 3.1% de materia orgánica. Por lo contrario, el área de la montaña donde se encuentra el cultivo de cacao el suelo tiene una textura franco arenoso arcilloso, con 60% arena, 21.2% de arcilla y 18.8% de limo, además, tiene un pH más neutro de 6.75, con un porcentaje de materia orgánica de 6.7% y un 3.1% de carbono orgánico. En relación con la montaña en la parte sureste el suelo es franco arenoso arcilloso, contiene un 70% de arena, 23.2% de arcilla, 6.8% de limo, el pH es de 6.90, el porcentaje de materia orgánica es de 6.4% y carbono orgánico de 4.5%. Asimismo, el suelo de la montaña en el área de cultivo de café la textura es franco arenoso arcilloso con un 54% de arena, 23.2% de arcilla, 22.8% de limo, pH de 7.07 y un porcentaje de materia orgánica de 7.8 y 4.5% de carbono orgánico.

En el área de cultivo donde se siembran granos y cereales el suelo es franco arenoso con un 54% de arena, con el porcentaje de arcilla de 29.2% el más alto entre todos los sitios, 12.8% limo, además tiene un pH de 7.6 (ligeramente más alcalino), 5.2% de materia orgánica y 3.0% de carbono orgánico, finalmente el área de pino tiene un suelo franco arenoso, con 70% de arena, el nivel más bajo de arcilla con un 17.2% y 12.8% de limo, también tiene un pH de 7.60 ligeramente alcalino y el porcentaje más alto de materia orgánica con 9.5% y un 5.5%.carbono orgánico.

Tabla 2. Caracterización físico-química del suelo por sitio muestreado

Sitio	%pH	%CO	% MO	% Arena	% Arcilla	% Limo	Textura
Hortalizas	6.94	1.8	3.1	78	19.2	2.8	Franco Arenoso
Montañita-Cacao	6.75	3.9	6.7	60	21.2	18.8	Franco arenoso arcilloso
Montañita-Hospital V	6.90	3.7	6.4	70	23.2	6.8	Franco Arenoso arcilloso
Montañita-Café	7.07	4.5	7.8	54	23.2	22.8	Franco Arenoso arcilloso
Granos y Cereales	7.67	3.0	5.2	54	29.2	16.8	Franco Arenoso arcilloso
Pino	7.60	5.5	9.5	70	17.2	12.8	Franco arenoso

Según Janati *et al*, (2017) dentro de los factores que influyen en la abundancia de la actividad de microorganismos solubilizadores de P se encuentra, la zona climática, la extensión de la vegetación, las condiciones ecológicas, las interacciones entre los microorganismos del suelo, los tipos de suelo, los tipos de plantas, las prácticas agrícolas y las propiedades físico-químicas del suelo, como el pH y la materia orgánica. También se ha demostrado que la textura del suelo es importante en la estructuración de las comunidades microbianas.

Con relación al pH del suelo, es el principal impulsor de la estructura de la comunidad microbiana, incluidos los miembros, bacterianos y fúngicos, los valores de pH del suelo entre 5.5 y 7.5 son los óptimos para la disponibilidad de P, debido a que evitan que el P se fije mediante aluminio, hierro o calcio y, pueda ser utilizado por las plantas. Los resultados obtenidos en cuanto al pH del suelo muestran que la mayor parte de los suelos están entre esos rangos de pH (Janati et al, 2017).

De acuerdo con Kaur & Kaur, (2020) los suelos con alto contenido de Carbono orgánico tenían un mayor número de PSB. Esto debido a que las PSB son bacterias heterotróficas y el carbono orgánico es importante para la proliferación, la funcionalidad, el crecimiento, y la diversidad microbiana. El tener mayor disponibilidad de carbono conduce a un aumento de

la biomasa microbiana, la actividad catabólica y, también, un incremento en la abundancia microbiana. Además, el cambio de uso de suelos no cultivados a tierras agrícolas disminuye el carbono, afectando negativamente la actividad microbiana. Coincidiendo con los resultados obtenidos, donde las áreas de cultivo de Hortalizas y granos y cereales tiene el menor contenido de carbono y son uno de los sitios con menor actividad de microbiana.

6.2. Descripción de microorganismos por sitio de muestreo

En la Tabla 2, se observa que, para granos y cereales, en la variable colonias la media fue de 14.3 con valores min 4.52 y max 36.58, con un CV de 105 % indicando una alta dispersión. En cuanto al Halo el promedio fue de 1.66, con valores min de 0.51 y max de 2.9. El Índice de solubilización de fósforo (InDP) la media fue de 14.61, con valores min 5.16 y max 36.63, el CV 102% lo que indica una dispersión de los datos, alta variabilidad, es decir, alto potencial de solubilización, pero muy heterogéneo (Figura 3).

En el área de cultivo de cacao en la montañita en lo que respecta a la variable colonia la media fue 2.62 con min de 0.56 y max de 4.85, con CV de 57%. Para Halo la media fue de 2.12, min de 0.49 y max 3.85, con un CV 46% con una variabilidad moderada. En el (InDP) índice de solubilización de fósforo tuvo una media de 3.78, el valor máximo 1.6 mientras que el valor máximo 5.6, con un CV de 31% lo que sugiere una capacidad de solubilización moderada y consistente.

En cuanto al sureste de la montañita en la variable colonia la media fue de 3.38 con valor min de 0.81 y max de 7.13, y un CV de 63.7% evidenciando una alta variabilidad. La variable halo reflejo una media de 2.02, valor min 0.48, max de 7.53, con CV de 121,6% indicando alta heterogeneidad. En cuanto a InDP la media fue 3.92, valor min 1.90, valor max 8.19, con CV de 58% indicando una capacidad de solubilización modera de los microorganismos del sitio, pero heterogénea.

En el área verde (Pino), la variable colonia, se obtuvo una media de 5.61, valor min 1.29 y valor max 13.37. En Halo la media 2.12, valor min 0.46, valor max 3.81, con un y un CV 7.9%. Asimismo, en el InDP (índice de solubilización) la media fue 6, valor min 1.72, valor max 13.74, con CV 74.5% refleja una capacidad de solubilización intermedia.

Tabla 3. Análisis descriptivo de microorganismos aislados por sitio de muestreo

Sitio	variable	media	sd	n	se	min	max	CV	ICI	ICS
Granos y Cereales	Colonia	14.38	15.11	4	7.56	4.52	36.58	105.06	-0.73	29.49
Montañita-Cacao	Colonia	2.62	1.5	16	0.38	0.56	4.85	57.24	1.12	4.13
Montañita-HV	Colonia	3.38	2.15	11	0.65	0.81	7.13	63.66	1.23	5.53
Pino	Colonia	5.61	4.49	8	1.59	1.29	13.37	80.16	1.11	10.1
Granos y Cereales	Halo	1.66	1.01	4	0.51	0.51	2.91	60.78	0.65	2.67
Montañita-Cacao	Halo	2.12	0.97	16	0.24	0.49	3.85	45.92	1.14	3.09
Montañita-HV	Halo	2.02	2.46	11	0.74	0.48	7.53	121.64	-0.44	4.48
Pino	Halo	2.12	1.69	8	0.6	0.46	4.9	79.85	0.43	3.81
Granos y Cereales	InDP	14.61	14.97	4	7.48	5.16	36.63	102.46	-0.36	29.58
Montañita-Cacao	InDP	3.78	1.16	16	0.29	1.6	5.64	30.83	2.61	4.94
Montañita-HV	InDP	3.92	2.27	11	0.69	1.9	8.19	57.99	1.65	6.2
Pino	InDP	6	4.47	8	1.58	1.72	13.74	74.54	1.53	10.47

sd; desviación estándar, *n*; número de bacterias, *se*; estándar error, *min*; valor mínimo, *max*; valor máximo, *CV*; coeficiente de variación, *ICI*; intervalo de confianza inferior al 95%, *ICS*; intervalo de confianza superior al 95%

La agricultura convencional consiste en la utilización de grandes cantidades de fertilizantes químicos y minerales, la labranza y la aplicación de pesticidas y herbicidas. Si bien la agricultura convencional conlleva a un aumento de la producción agrícola también puede provocar efectos adversos en las propiedades físico-químicas del suelo, lo que, a su vez puede afectar la actividad microbiana del suelo (Azarbad, 2022).

A su vez coincidiendo con Kaur & Kaur (2020), quienes indican que las diferencias en el número de microorganismos solubilizadores de fósforo en suelos naturales y suelos agrícolas, lo atribuyen al uso desequilibrado de fertilizantes inorgánicos que han producido una alteración a la composición bacteriana y diversidad funcional.

De igual manera, en la Figura 3, se puede observar de forma más resumida el conteo colonial en el ítem A) en los cuales en el área verde (Pino), en la parte de la montaña-sureste y en el área al cultivo de cacao se agrupan cerca del promedio general y con barras de error cortas indicando baja dispersión. Mientras que en granos y cereales presenta la mayor, reflejando más heterogeneidad entre las colonias. En ítem B) representa el diámetro del Halo de solubilización donde se observa una mayor amplitud de las barras en el área verde (Pino)

evidenciando una mayor variabilidad en de los halos, en el sureste de la montaña no se observa desplazamiento en las barras y es donde se encuentran halos más grandes, el área de cultivo de cacao en la montaña son intermedios, mientras que en granos y cereales son más pequeños. En lo que respecta a la solubilidad InDP (índice se solubilización) el Área verde (Pino) y el área de la montaña donde se cultiva cacao tienen rangos promedio, el área destinada al cultivo de granos y cereales, mostró una gran dispersión en los datos, es decir, los valores se encuentran muy separados entre sí, lo que indica un menor número de aislados, sin embargo, se encuentran cepas muy eficientes ya que es el sitio donde se encontró el InPD más alto.

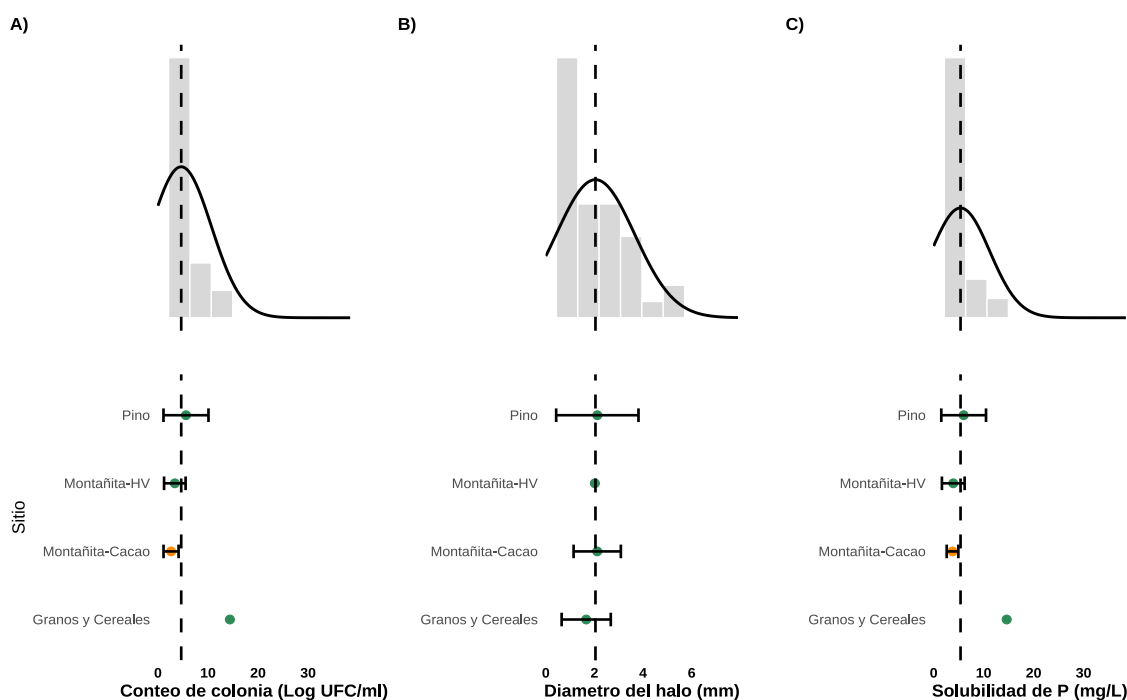


Figura 3. Comparación por sitios de muestreo de indicadores de desempeño de microorganismos solubilizadores de fósforo: A) conteo de colonias, B) Diámetro del halo, C) índice de solubilización

Con respecto al halo se observa que en el área sureste de la montaña se encuentran halos más grandes, sin embargo, este método de selección debe limitarse a una evaluación preliminar ya que, aunque es un procedimiento práctico debido a su aplicación fácil y rápida

es necesario que los microorganismos aislados se analicen mediante medio líquido para una cuantificación precisa del fósforo soluble liberado que permita validar su actividad (Armi et al, 2023).

Por otro lado, granos y cereales se encuentra el valor máximo respecto al índice de solubilización, pero a su vez este sitio no tiene la mayor diversidad de microorganismos. Esto puede coincidir con Ayan et al, (2021) quienes sugiere que ante las diferentes funciones que realizan los microorganismos en los sistemas agrícolas, se encuentran influenciadas por factores tanto bióticos como abióticos; siendo el motivo por el cual han desarrollado una gran capacidad de adaptación como estrategia ante condiciones adversas en el entorno.

6.3. Morfología Colonial de los microorganismos

En la Figura 4, se observa la forma que expresaron las colonias de los microorganismos aislados, muestra diferentes formas de colonias según el sitio, la que predomina más es la circular con un total de 36 colonias las cuales representan el 88% de las colonias aisladas, siendo más frecuente en la Montañita área de cacao con 16 colonias, en el área sureste de la Montañita con 6, en el área verde (Pino) con 7 y en las áreas de cultivo de granos y cereales, hortalizas y café en la montaña únicamente se registraron de una a dos colonias. En cuanto a las colonias con forma cuadrada, ovalada, triangular irregular y rizoide tuvieron una constancia baja.

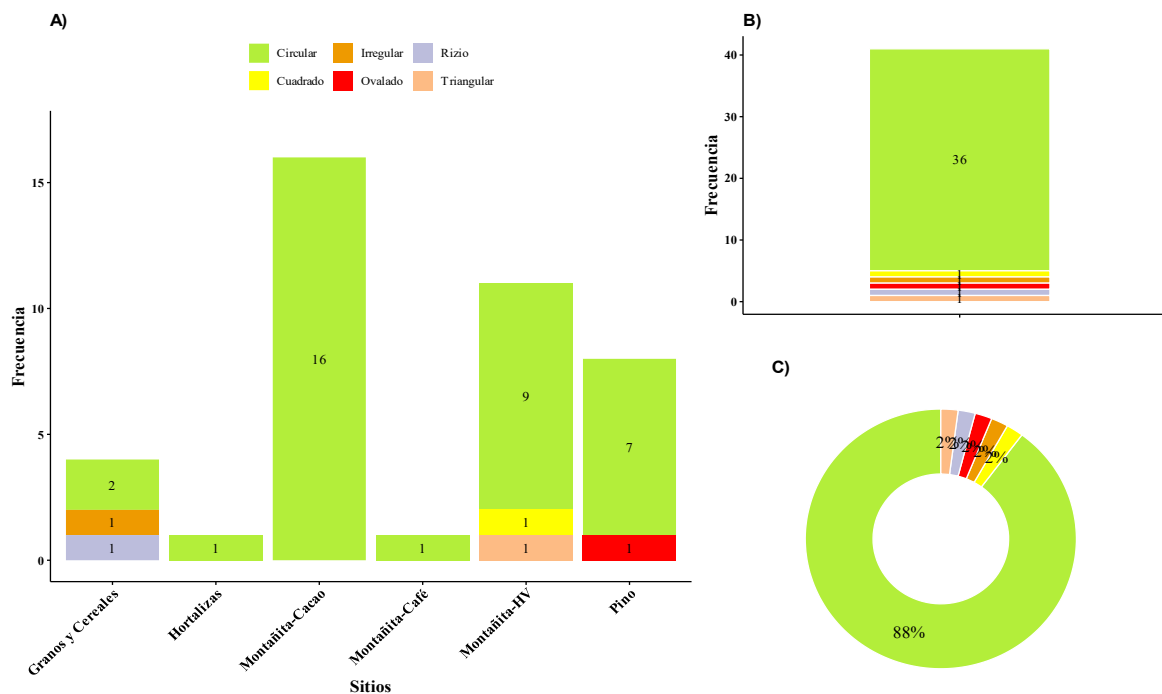


Figura 4. Forma de colonias de los microorganismos aislados por sitio de muestreo. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados

Las bacterias crecen en medios sólidos como colonia, estas se definen como una masa visible de microorganismos, todos originados a partir de una célula madre. Para la identificación de hongos y bacterias, es de mucha importancia conocer como crece el organismo en el medio ya que las características de las colonias pueden ayudar a determinar su identidad. debido a que diferentes especies de bacterias pueden producir colonias muy distintas (Reynolds, 2024).

Según investigación realizada por (Djuuna et al., 2022) en 31 de 37 microorganismos la forma predominante de las colonias fue circular, identificándose principalmente géneros como *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp. Además, estudios han identificado a *Bacillus* y *Pseudomonas* como las bacterias solubilizadoras de fósforo más predominantes, aumentando la biodisponibilidad del fósforo en el suelo (Shegaw & Hailu, 2024).

En medios sólidos, una colonia se deriva de una sola célula, al separarlas bien de otras colonias, tendrá una forma característica (tanto en elevación como en margen), tamaño, color

y consistencia (Breakwell et al, 2007). Por ejemplo, la colonia con forma rizoide coincide con las características de la bacillus mycoides, es gram negativa, presenta una morfología filamentosa y extendida característica al ser cultivada en agar (Stratford et al, 2013).

6.4. Color presente en las colonias de microorganismos aislados

En la figura 5, se muestran los resultados obtenidos del color de las cepas aisladas, se observa que hay una mayor diversidad en cuanto al color en el área de Pino, de cultivo de cacao y en el sureste de la Montañita, mientras que el área de cultivo de granos y cereales, Hortalizas y Café en la montaña muestran una menor diversidad. Las colonias de color blanco y crema tienen una frecuencia de 12 colonias respectivamente representando el 29% cada una, el color amarillo 9 colonias las cuales representan el 22%, en cuanto a el color café claro se encuentra 5 colonias representando el 12%, 2 colonias de color verde que representan un 5% y una de color rosa representando un 2%

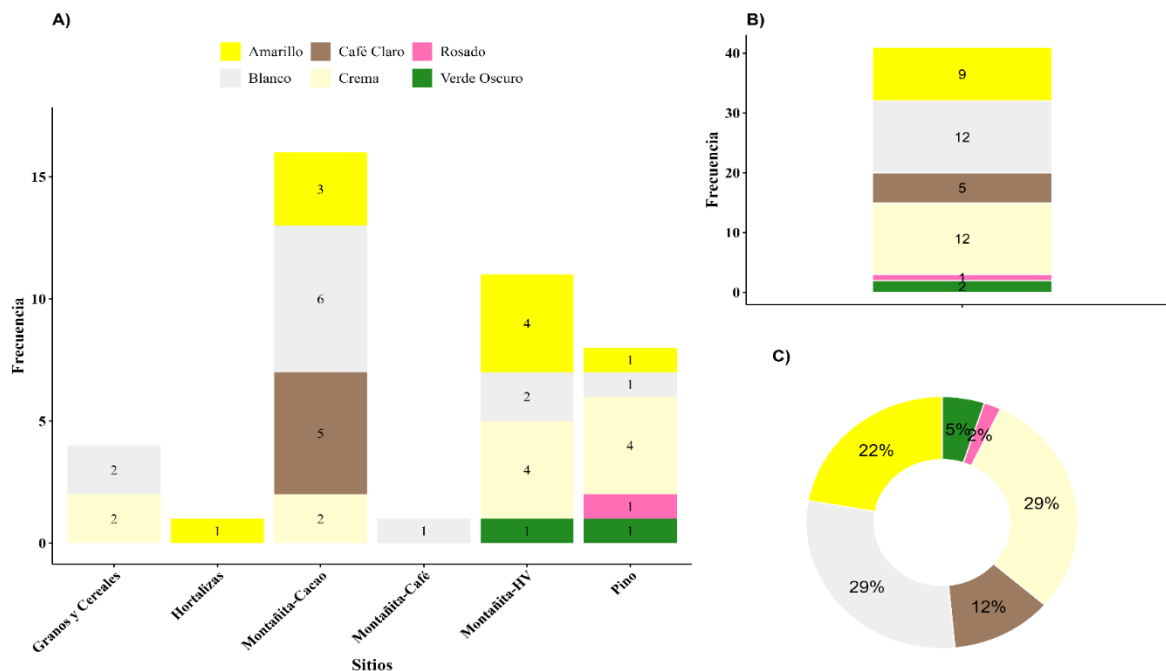


Figura 5. Diversidad de color de microorganismos aislados por sitio de muestreo. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados

Las colonias suelen diferir en cuanto a tamaño, color y forma, estas diferencias influyen en la clasificación de microorganismos Madigan et al, (2015). Además el color está relacionado con la melanina que es un término empleado para nombrar a un grupo de pigmentos, estos más allá de su función en la coloración de hongos y bacterias, los microorganismos que poseen melanina, la cual tiene efectos protectores contra el estrés ambiental presenta propiedades fotoprotectoras debido a su capacidad para absorber la radiación UV, la melanina además de brindar resistencia a diversos factores ambientales inusuales y condiciones extremas también, protege contra condiciones de estrés comunes, como las altas temperaturas o desecación (Solano, 2014).

A la vez, Daramola & Awojobi, (2023) menciona que las bacterias producen diversos tonos de pigmentos de colores, como el rojo asociado a *Serratia marcescens*, *Gordonia jacobae*, *Deinococcus* sp. Pigmentos amarillos; *Micrococcus luteus*, *Hymenobacter* sp, verdes; *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*, naranja; *Eritrobacteriae*, *Planococcus maritimus*, azul *Corinebacteria insidiosus*, *Erwinia crisanthemus*, *Vogesella indigofera*, rojo-amarillo; *Kocuria* sp., *Criseobacteria*, púrpura; *Cromobacteria lilyi* artocarpos

6.5. Pruebas de Catalasa y Oxidasa

En relación con las pruebas de catalasa (Figura 6) mostraron que el mayor porcentaje de microorganismos resultaron catalasa positiva, representando un 66% de los microorganismos aislados, el mayor número se encuentran en la montaña con una frecuencia de 16 organismos y en el área de pino con una frecuencia de 5 organismos, la cantidad de microorganismos que dieron negativo a la prueba de catalasa representan 34% siendo una menor cantidad.

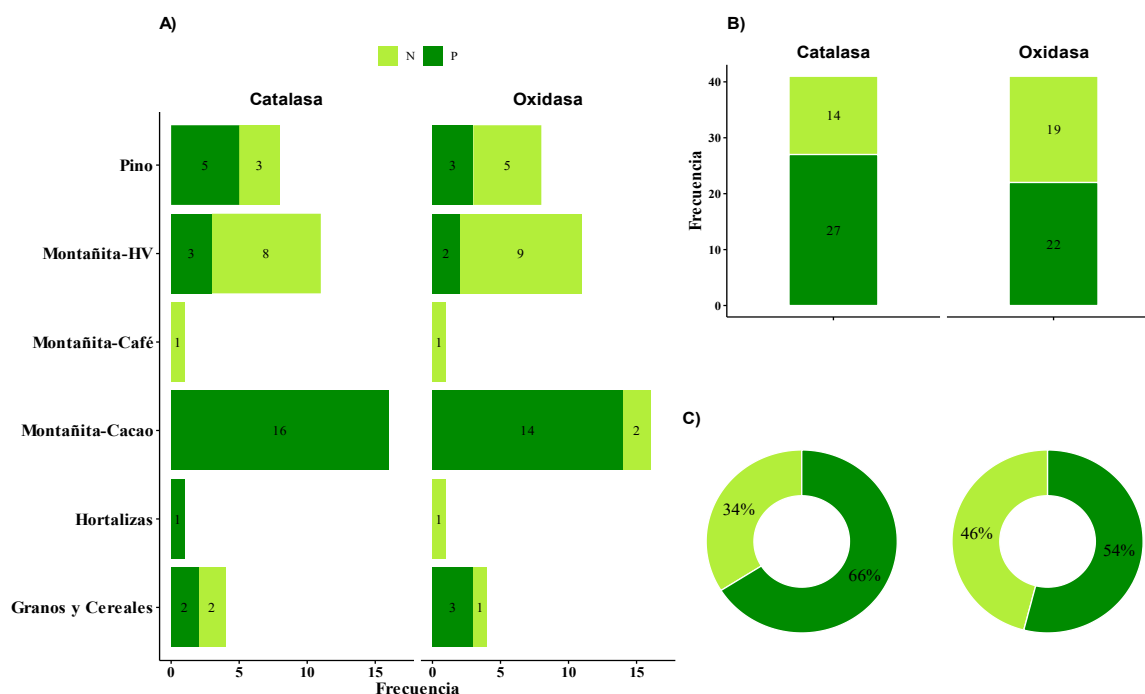


Figura 6. Resultado de pruebas de catalasa y oxidasa de aislados por sitio muestreado. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba

En lo que se refiere a las pruebas de oxidasa el mayor número de microorganismos resulto ser oxidasa positiva con un numero de 22 microorganismos el cual representa el 54%, distribuidos en el área pino, Granos y cereales, área de cultivo de cacao y sureste de la Montañita con una frecuencia de 14. Por otro lado, los microorganismos con oxidasa negativa tienen una frecuencia de 19 representando el 46%.

La catalasa es un enzima que pertenece a la categoría de oxido reductores catalizando la descomposición del peróxido hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno (Soto López et al, 2015). Según (Ahmad et al., 2018) en las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) la producción de la enzima catalasa ayudan a resistir las condiciones de estrés de las plantas neutralizando el efecto del peróxido de hidrógeno. A su vez, el autor Hafezi & Khamar, (2024) señala que “las bacterias anaerobias no poseen la enzima catalasa por lo que son incapaces de sobrevivir en presencia de oxígeno”. El 66% de microorganismos aislados son

catalasa positiva sugiriendo una comunidad microbiana mayormente aerobia, así como también, su selección prioritaria debido a que pueden actuar bajo niveles de estrés.

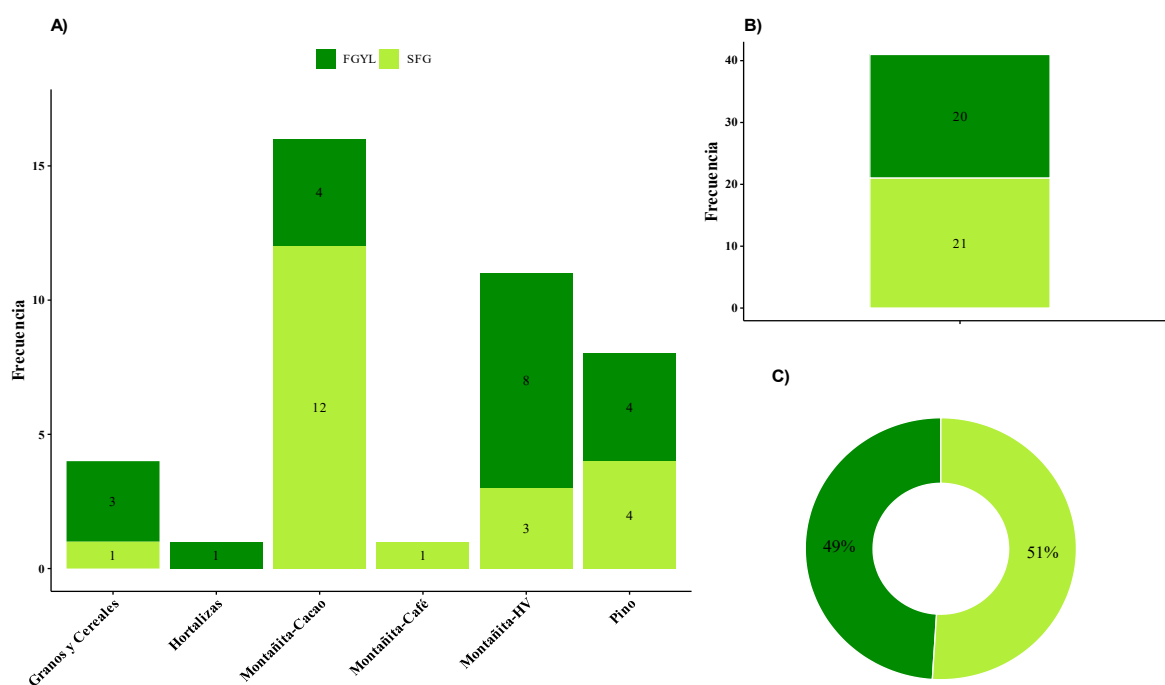
Saeed et al, (2023) menciona que las plantas necesitan un nivel óptimo de peróxido de hidrógeno para su crecimiento, es por ello que producen una cantidad específica de catalasa para su protección. Una estrategia para eliminar el peróxido de hidrógeno en las plantas. es la producción de catalasa por microbios capaces de mantener el nivel de peróxido de hidrógeno en ellas. Por lo tanto, las cepas microbianas con actividad catalasa pueden ser útiles para mejorar el crecimiento de las plantas en condiciones climáticas cambiante y a su vez está relacionada con la producción de ácido orgánico que reduce el pH y mejora la disponibilidad de nutrientes.

En relación con la oxidasa, Mayadunna *et al* (2023) señalan que las bacterias solubilizadoras de fósforo pueden liberar P al desintegrar el fosfato de roca, al producir ácidos orgánicos y liberar protones debido al metabolismo microbiano (fermentación, respiración oxidativa) que explica la disponibilidad de P del fosfato de roca. Esto indica que la mayoría de los microorganismos aislados en esta investigación pueden disolver el fosfato de roca al producir ácidos orgánicos tanto cuando respiran como cuando fermentan.

Es importante destacar que la etapa final de la respiración bacteriana implica una serie de componentes, conocidos como la cadena de transporte de electrones. El paso final de la cadena puede implicar el uso de la enzima citocromo oxidasa, el cual cataliza la oxidación del citocromo c oxidasa mientras reduce el oxígeno para formar agua (Shields & Cathcart, 2010). Además, Hafezi & Khamar, (2024) menciona que las enzimas oxidasas son parte integral de dicho sistema de transporte de electrones en la respiración aeróbica, donde el citocromo oxidasa utiliza el oxígeno como aceptor de electrones. Esto indica que los microorganismos aislados positivos a oxidasa utilizan en citocromo oxidasa, es decir, completan la cadena de electrones presente en la respiración aeróbica, por lo tanto, el que los microorganismos tengan oxidasa positiva es un marcador o indicador de respiración aeróbica.

6.6. Pruebas de Fermentación de Kligler

De acuerdo con los resultados de las pruebas de kligler podemos observar que el 49% (20 aislados) fermentan glucosa y lactosa mientras que el 51% (21 aislados) fermenta solo glucosa, todos los aislados de los diferentes sitios son capaces de fermentar glucosa, aun así, hay un número considerable que también fermentan lactosa en las demás áreas a excepción de montañita-café.



^{1/} FGYL: Fermenta glucosa y lactosa

^{2/} SFG: Solo Fermenta Glucosa

Figura 7. Resultados de pruebas de Fermentación de Kigler de aislados por sitio. A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba

En cuanto a la capacidad de fermentación de glucosa y lactosa de los microorganismos los resultados coinciden con la investigación de Nyongesa *et al*, (2025) donde todos los aislados metabolizaron glucosa en el medio de agar hierro de Kligler, pero solo el 50% lactosa, a su

vez resalta la diversidad en las vías de utilización de carbono, y destaca que la flexibilidad metabólica es esencial para la adaptación de los microorganismos a diversas condiciones ambientales.

Asimismo, estos ácidos son el producto del metabolismo microbiano, principalmente por respiración oxidativa o por fermentación de carbono orgánico soluble, por ejemplo, la glucosa (Osorio, 2009). Esto hace evidente que la producción de ácidos orgánicos está fuertemente regulada por la fuente de carbono y nitrógeno disponibles para la nutrición del microorganismo (Patiño & Sanclemente, 2014).

6.7. Pruebas de Tinción de Gram

En la Figura 8 se observan los resultados obtenidos de la prueba de tinción de gran, donde el mayor número de microorganismos son bacilo gram negativo con una frecuencia de 22 cepas las cuales indican que el 54% principalmente en el área de cultivo de cacao y sureste de la montaña, con un 22% coco gram negativo con una frecuencia del 9 cepas principalmente en el área de montaña donde se cultiva cacao el sureste de la montaña, mientras que bacilo gram positivo tienen una frecuencia de 5 cepas equivalente al 12% distribuidas en montaña-cacao y área verde (pino), los coco gram positivo también tiene una frecuencia de 5 representando el 12% encontrándose únicamente en el sureste de la montaña y área verde (pino).

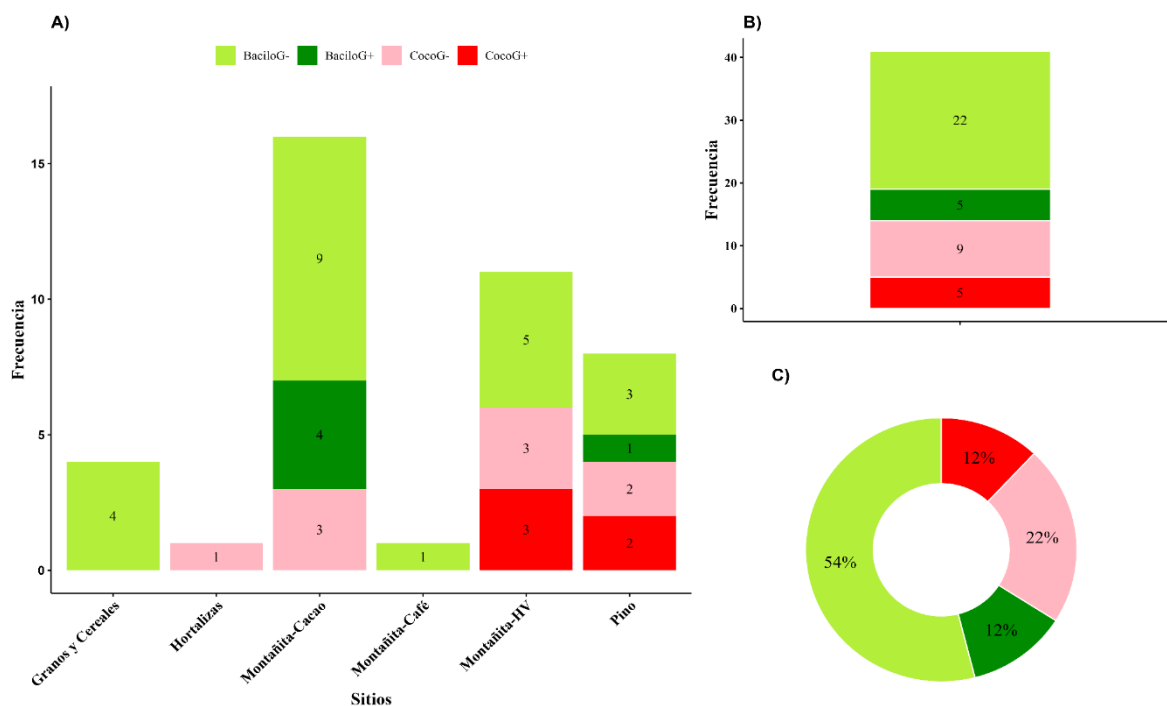


Figura 5. Resultados de prueba de tinción de gram de aislados por sitio A) Frecuencia por sitio, B) Frecuencia total por prueba C) Porcentaje total de resultados positivos y negativos por prueba

La tinción de gram es crucial ya que constituye el primer paso para diferenciar bacterias. Las gram positivas poseen una pared celular gruesa debido a las capas gruesas de peptidoglicano, es por ello que se tiñen de púrpura, por otro lado, las gram negativas poseen capas delgadas de peptidoglicano y se tiñen de rojo o rosa (Paray et al., 2023).

Los microorganismos solubilizadores de fósforo están compuestos por bacterias, actinomicetos, y hongos, entre las cuales las bacterias solubilizadoras de fosforo están ampliamente distribuidas y representan entre el 1 y el 50 % de los microorganismos solubilizadores de fósforo en el suelo, los actinomicetos entre el 15 y el 45 % y los hongos solubilizadores de fósforo solamente el 0,1 % y el 0,5 %. Entre las bacterias solubilizadoras de fósforo que convierten el fósforo insoluble en fósforo disponible para las plantas; en su mayoría son Gram negativas (Pan & Cai, 2023). Coincidiendo con Kalayu, (2019). quien señala que se ha reportado que las bacterias gram negativas son más eficientes en la disolución de fosfatos minerales al contrario de las gram positivas debido a la liberación de

diversos ácidos orgánicos al suelo circundante.

La habilidad solubilizadora de algunas bacterias puede perderse. La mayoría de los aislamientos gram positivos y algunos gram negativos pueden perder su capacidad de solubilizar fosfatos tras repetidos subcultivos (Eleonora & Pineda, 2014). Esto indica que la mejor opción para realizar cultivos o subcultivos son los microorganismos gram negativos ya que la probabilidad de que pierda su capacidad de solubilización es menor.

6.8. Solubilización de Fósforo en relación con el pH del medio

En la (Figura 9), se representan las concentraciones de fósforo en relación con el pH, en las gráficas se observa en el inciso A, B, y C (inoculo 1, 2 y 3) que las concentraciones de fósforo tienen un aumento significativo a partir del día 3 al 7. El inoculo 1, alcanzando valores de 569.1 mg/L de P disponible a los 3 días y 643.83mg/L de P disponibles a los 7 días, asimismo, se observa una disminución del pH. Por lo contrario, se observa un comportamiento diferente en el inciso D y E donde las concentraciones son elevadas y constantes hasta el día 5 y 6 por ejemplo el inoculo 32 donde de alcanzan valores entre 8.40 mg/L a al día 5 y 956.61 al día 6 siendo evidente el aumento en las concentraciones de fosforo y de igual forma una disminución en el pH sobre todo en el D_ inoculo 32

Según Patiño & Sanclemente (2014) se ha demostrado que la capacidad de solubilización de P en la mayoría de bacterias está relacionada con la producción de ácidos orgánicos, resultantes de la respiración oxidativa o de procesos fermentativos microbianos. De acuerdo con Brito et al, (2012). La liberación de diferentes tipos de ácidos, como el ácido glicólico, ácido 2-ceto glucónico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido succínico y ácido tartárico. En consecuencia, se produce la disminución del pH del medio, lo que, a su vez, genera un aumento en la solubilización del fósforo. Igualmente, los hallazgos de Patiño & Sanclemente (2014) y Brito et al, (2012) concuerdan con los reportados por (Mardad et al, 2013; Esther et al 2022; Shegaw & Hailu, 2024; Portilla et al, 2025) en que el descenso del pH se debe a la producción de ácidos orgánicos que producen la acidificación

del medio de cultivo, sugiriendo que es el principal mecanismo de solubilización de los microorganismos lo cual coincide con los resultados obtenidos en esta investigación.

Ahora bien, la dinámica de solubilización de fósforo en los inóculos 1,2 y 3 con respecto los inóculos 32, 41 concuerdan con (Sánchez et al, 2022) quienes señalan que de acuerdo al tiempo requerido para solubilizar el P las PSB se pueden clasificar en solubilizadoras tempranas que son aquellas que alcanzan un máximo valor de solubilización de P a los Tres días (72 horas) de incubación y las solubilizadoras tardías los que solubilizan el P después de cuatro o cinco días de incubación.

Asimismo, las fluctuaciones presentes en las gráficas con respecto a las concentraciones de fósforo coinciden con los resultados de la investigación realizada por (Mardad et al., 2013) señalando que algunas PSB muestran fluctuaciones en sus comportamientos durante la incubación debido a que una parte del ortofosfato liberado fue asimilado por el PSB para crecer y formar biomasa microbiana

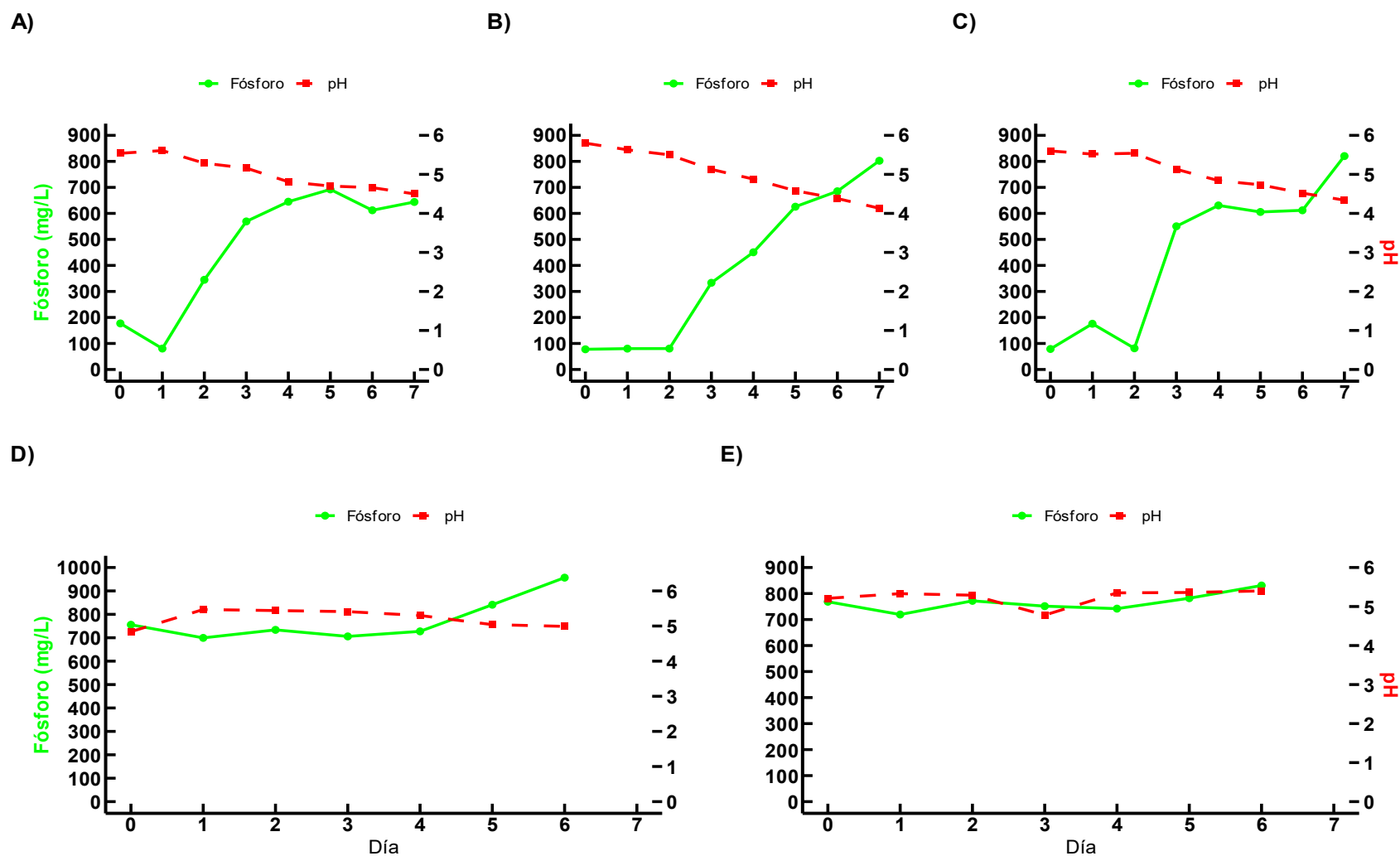


Figura 8. Solubilidad de fósforo y los valores de pH de los diferentes inóculos medidos en los días 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7. A) inóculo_1, B) inóculo_2; C) inóculo_3; D) inoculo_32; E) inóculo_42

6.9. Cantidad de Unidades Formadoras de colonia (UFC/ml) en inóculos

La figura se observa la cuantificación de UFC/ml, los inóculo 1, 2, 3, 32, 41 a lo largo de varios días. Algunas placas quedaron fuera del rango contable DNPC (demasiado numerosas para contar) cuando excedieron las 300 colonias, como es el caso del inóculo 41, lo contrario con las que fueron DPPC (Demasiado pocas para contar) cuando son menor de 30 colonias. La mayoría mantuvieron cantidades altas durante los días medido y algunos mostraron un descenso moderado en los últimos días.

Inóculo 1			
Día	Dilución	Recuento	UFC/ml
0	-----	-----	-----
1	10 ⁻⁵	DPPC	-----
2	-----	-----	-----
3	10 ⁻⁵	DPPC	-----
4	10 ⁻⁵	239	2.39 x 10 ⁻⁷
5	10 ⁻⁵	79	7.9 x 10 ⁻⁶
6	10 ⁻⁵	DPPC	-----
7	10 ⁻⁵	DPPC	-----

Inóculo 2			
Día	Dilución	Recuento	UFC/ml
0	10 ⁻⁵	78	7.8 x 10 ⁻⁶
1	10 ⁻⁵	170	1.7 x 10 ⁻⁷
2	10 ⁻⁵	DPPC	-----
3	-----	-----	-----
4	-----	-----	-----
5	10 ⁻⁵	112	1.12 x 10 ⁻⁷
6	-----	-----	-----
7	-----	-----	-----

Inóculo 3			
Día	Dilución	Recuento	UFC/ml
0	10 ⁻⁵	243	2.23 x 10 ⁻⁷
1	-----	-----	-----
2	10 ⁻⁵	DPPC	-----
3	10 ⁻⁵	199	1.99 x 10 ⁻⁷
4	10 ⁻⁵	239	2.39 x 10 ⁻⁷
5	-----	-----	-----
6	10 ⁻⁵	DPPC	-----
7	10 ⁻⁵	DPPC	-----

Inóculo 32			
Día	Dilución	Recuento	UFC/ml
0	10 ⁻⁵	DNPC	-----
1	10 ⁻⁹	398	3.98 x 10 ⁻¹¹
2	10 ⁻⁸	249	2.49 x 10 ⁻¹⁰
3	10 ⁻⁵	DNPC	-----
4	10 ⁻⁵	DNPC	-----
5	10 ⁻⁷	293	2.93 x 10 ⁻⁹
6	10 ⁻⁵	489	2.89 x 10 ⁻⁷

Inoculo 41			
Día	Dilución	Recuento	UFC/ml
0	10 ⁻⁵	DNPC	-----
1-6	10 ⁻⁹	DNPC	-----

DNPC: Demasiado numerosa para contar > 300
DPPC: Demasiado pocas para contar <30
UFC: Unidades Formadoras de Colonias
Vol. Muestra = 1 ml

Figura 9. Unidades Formadoras de Colonias por ml (UFC/ml) de los inóculos 1, 2, 3,32,41

Para evaluar la calidad de diferentes tipos biofertilizantes algunos países han establecido ciertos parámetros de calidad como ser, forma física, nivel de contaminación, pH, tamaño de partícula, el máximo porcentaje de humedad en peso y el recuento mínimo de células visibles, en países como China en este último es el estándar más importante y depende del tipo de bacteria, la cantidad de células vivas varía entre $>0.5 \times 10^{-9}$ UFC mL⁻¹ o $>0.1 \times 10^{-9}$ UFC g⁻¹ y $>1.5 \times 10^{-9}$ UFC mL⁻¹ o $>0.2 \times 10^{-1}$ UFC g⁻¹ para productos líquidos y sólidos. Por otro lado, en la India el recuento mínimo de células visibles, en el caso de las bacterias, deben ser de 5×10^{-7} células por gramo de portador sólido o 1×10^{-8} células por ml de portador líquido. Es por ello que la calidad de una colonia debe garantizarse para asegurar el éxito de la inoculación e impulsar la aceptación de los agricultores (Malusá & Vassilev, 2014). Según los resultados obtenidos en la investigación se encuentran cepas muy eficientes, pero se deben tomar en cuenta las UFC que garanticen la calidad del inóculo al momento de llevarlo a campo.

VII. CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia de microorganismos solubilizadores de fósforo en los diferentes sitios muestrados. El área de cultivo de granos y cereales mostro una baja diversidad de microorganismos, pero un alto el índice de solubilización entre los aislados. Mientras que en la zona de cacao en la montaña y área verde de (pino) se observó una la mayor diversidad, sugiriendo que los tipos de usos del suelo están relacionada actividad microbiana del mismos.

Mediante las pruebas bioquímicas se observó que los microorganismos tienen actividad catalasa, oxidasa y la mayoría fueron gram negativo, rasgos que sugieren la presencia de cepas que contribuyen a mejorar el proceso de solubilización y podrían tener una buena capacidad adaptación ante diferentes niveles de estrés y condiciones climáticamente cambiantes en el suelo.

Con respecto a la capacidad de solubilización de fósforo se evidencio la disminución del pH conforme aumento la concentración de fosforo, sugiriendo que el mecanismo de solubilización más acertado es la producción de ácidos orgánicos.

VIII. RECOMENDACIONES

Realizar la identificación de los microorganismos aislados mediante 16S rRNA, para conocer con exactitud el tipo de microorganismo con el que se está trabajando, así como también continuar realizando pruebas de solubilización al resto de microorganismos que muestran un alto o moderado índice de solubilización.

Desarrollo de ensayos en invernadero y campo que permitan validar la capacidad de solubilización de P de los microorganismos, la absorción de P, el crecimiento del cultivo y su rendimiento, permitiendo obtener inóculos con microorganismos resistentes, que se adapten ante condiciones adversas del entorno y toleren condiciones de estrés, lo cual permitirá tomar mejores decisiones al seleccionar cepas para llevarlas a campo en un futuro.

.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Reynolds, J. (2024). *Morfología de colonias bacterianas*.
https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_Labs/Microbiology_Labs_I/08%3A_Bacterial_Colony_Morphology?utm_source=chatgpt.com
- Ahmad, M., Ahmad, I., Hilger, T. H., Nadeem, S. M., Akhtar, M. F., Jamil, M., Hussain, A., & Zahir, Z. A. (2018). Estudio preliminar sobre la solubilización de fosfato *Bacillus subtilis* cepa Q3 y *Paenibacillus* Cepa sp. Q6 para mejorar el crecimiento del algodón en condiciones alcalinas. *PeerJ*, 2018(7).
<https://doi.org/10.7717/peerj.5122>
- ANACAFÉ. (2004). *GUÍA PARA LA CAPTURA, REPRODUCCIÓN Y APLICACIÓN ARTESANAL DE MICROORGANISMOS*.
<https://www.anacafe.org/uploads/file/a6f6ece150d84ecba6cd73c50341ec07/Guia-Microorganismos.pdf>
- Arce, S. E. (2020). *ANÁLISIS COMPARATIVO DE PRECIOS Y COSTOS DE PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS CULTIVADAS DE MANERA ORGÁNICA Y CONVENCIONAL*. 81-108. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v44n2/0377-9424-ac-44-02-81.pdf>
- Armi, M., Ridha, M., Gatrouni, M., Mateus; Dina, Asses Nedra, & Pinho, H. (2023). *Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfato de suelos tunecinos*. <https://doi.org/10.3390/microorganismos11030783>
- Ayan, L., Macías, P., Maza, M., López, R., & Guevara, F. (2021). Microorganismos del

- suelo y sus usos potenciales en la agricultura frente al escenario del cambio climático. *Magna Scientia UCEVA*, 1(1), 104-119. <https://doi.org/10.54502/msuceva.v1n1a14>
- Azarbad, H. (2022). Agricultura convencional vs. agricultura orgánica: ¿cuál promueve mejores rendimientos y resiliencia microbiana en climas que cambian rápidamente? En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.903500>
- Bastidas, F. L., & Muñoz, L. K. (2011). *EFFECTO DE DOS FERTILIZANTES FOSFATADOS SOBRE LA BIOACUMULACIÓN DE CADMIO EN UN SUELO DEL CAUCA CULTIVADO CON LECHUGA (Lactuca Sativa L.)*. <http://surl.li/zjmctv>
- Becerra, S., Navia De Mosquera, N., & López, Ñ. (2007). *Efecto de niveles de fósforo y potasio sobre el rendimiento del cultivar 'Criolla Guaneña' en el departamento de Nariño* (Vol. 14, Número 1). <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5512142.pdf>
- Beltrán, E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. En *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu* (Vol. 15, Número 1). https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num1_art:401
- Bergen, B., Verbeeck, M., & Smolders, E. (2022). Trace metal accumulation in agricultural soils from mineral phosphate fertiliser applications in European long-term field trials. *European Journal of Soil Science*, 73(1). <https://doi.org/10.1111/EJSS.13167>
- Bienes, R. (2009). *El perfil del suelo: formación y clasificación*. <https://www.researchgate.net/publication/235890059>
- Blanco, R., & Senciales, J. (2001). *La influencia de los factores formadores en las*

variaciones de las características y propiedades de los suelos de los montes de Málaga. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/226525.pdf>

Bonomelli, C., Bonilla, C., & Valenzuela, A. (2003). *Efecto de la fertilización fosforada sobre el contenido de cadmio en cuatro suelos de Chile.* 1179-1186. <https://www.scielo.br/j/pab/a/dBv7FZxQWJBM4MnpwtfSt8M/?format=pdf>

Breakwell, D., Woolverton, C., Macdonald, B., Smith, K., & Robison, R. (2007). *Protocolo de morfología de colonias.* www.onlinedoctranslator.com

Brito, J. E., Ulla, E. L., & Autor, *. (2012). *Microorganismos solubilizadores de fosfato en dos regiones agroecológicas de la provincia de Tucumán.* https://www.researchgate.net/publication/259929871_Microorganismos_solubilizadores_de_fosfato_en_dos_regiones_agroecologicas_de_la_provincia_de_Tucuman

Cartes, G. (2013). *Degradación de suelos agrícolas y el SIRSD-S.* www.odepa.gob.cl
Conan; Fadem. (2011). *GUÍA COMUNITARIA PARA LA SALUD AMBIENTAL-2011.* https://hesperian.org/wp-content/uploads/pdf/es_cgeh_2011/es_cgeh_2011_cap15.pdf

Corrales Ramírez, L. C., Caycedo Lozano, L., & Quijano Duarte, S. (2022). *Catalisis, enzimas y pruebas rápidas. Revista Nova publicación científica en ciencias biomédicas, 20(39), 121-150.* <https://doi.org/10.22490/24629448.6591>

Cruz, et al. (2021). *Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos.* <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v12n5/2007-0934-remexca-12-05-899.pdf>

Daramola, I. V., & Awojobi, K. O. (2023). *Bioproducción y Aplicación de Pigmentos*

- Naranjas y Amarillos Obtenidos a partir de *Chryseomicrobium palamuruense* y *Micrococcus luteus*. *Journal of Advances in Microbiology*, 23(8), 36-50. <https://doi.org/10.9734/jamb/2023/v23i8742>
- Djuuna, I. A. F., Prabawardani, S., & Massora, M. (2022). Distribución poblacional de microorganismos solubilizadores de fosfato en suelo agrícola. *Microbes and Environments*, 37(1). <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME21041>
- Eleonora, M., & Pineda, B. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. En *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu* (Vol. 15, Número 1).
- Esther, M., Yañez-Ocampo, G., & Diego Romero Hinojosa, M.-S. F. (2022). *microorganismos Artículo Palabras clave: Bacillus pumilus; biofertilizante; fósforo soluble; medio Pikovskaya; sacarosa Editores académicos: Carlos.* <https://doi.org/10.3390/microorganismos11010049>
- FAO. (2009). *Guía para la descripción de suelos.* <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/b54d0348-dfce-413c-bd5d-142b3a14a049/content>
- Fernández, M. T. (2007). *Fósforo: amigo o enemigo.* <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=223114970009> www.redalyc.or
- Fernández, V. (2015). *Aislamiento y caracterización de poblaciones bacterianas solubilizadoras de fosfatos en tres agroecosistemas del Valle del Cauca.* <https://acortar.link/odnfkE>
- Figuroa, M., Menez, M., Solorio, C. A., & Fernández Reynoso, D. F. (2018). Influencia de los factores formadores en las propiedades de los suelos en la Mixteca, Oaxaca,

México. *Terra Latinoamericana*, 36(3), 287-299.
<https://doi.org/10.28940/terra.v36i3.259>

Geisseler, D. (2022). *Salud de suelos. Características y descripción de indicadores*.
<https://www.plataformaextension.cl/archivos/2022/11/Salud-de-Suelos-Caracteristicas-e-Indicadores.pdf>

Gràcia, et al. (2021). *Manual para el diseño e implementación de un modelo agroalimentario regenerativo: el sistema Polyfarming*.
https://polyfarming.eu/wpcontent/uploads/2021/06/Manual_Polyfarming.pdf

Guevara, B. L., Escuela, L., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2017). *Aislamiento y caracterización morfológica de cepas nativas de actinomicetos y su actividad antagónica contra Ralstonia solanacearum, Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Salmonella sp.*

Hafezi, A., & Khamar, Z. (2024). El método y análisis de algunas pruebas bioquímicas de uso común para la identificación microbiana: una revisión. *Comprehensive Health and Biomedical Studies*, 3(2). <https://doi.org/10.5812/chbs-160199>

Hernández, et al. (2011). *SOLUBILIZACIÓN in vitro DE FOSFATOS POR UNA CEPA DE Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson*.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S140531952011000800003&script=sci_abstract

Houben, S., & Brinks, H. (2020). *MANTENIMIENTO Y MEJORA DE LA SALUD DEL SUELO*. <https://best4soil.eu/factsheets/12>

INIA. (2015). *Semana de la Ciencia y Tecnología Jornada de Puertas Abiertas*.
<https://inia.uy/el-suelosemana-de-la-ciencia-y-tecnologia-jornada-de-puertas-abiertas-20-de-mayo-de-2015>

Janati, W., Bouabid, R., Mikou, K., & Faouzi; Lahsen. (2017). Bacterias solubilizadoras de fosfato de suelos con condiciones ambientales variables: aparición y función. *PLoS ONE*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal>

Javier Sánchez. (s. f.). *FERTILIDAD DEL SUELO Y NUTRICION MINERAL DE PLANTAS*. Recuperado 5 de noviembre de 2024, de <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FERTILIDAD%20DEL%20SUELO%20Y%20NUTRICION.pdf>

Jimenez, B., Rodríguez, N., & Lopez, M. (2023). *AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO EN UN ARIDISOL TROPICAL*. <https://orcid.org/0009-0003-7433-3334>

Kalayu, G. (2019). Microorganismos solubilizadores de fosfato: un enfoque prometedor como biofertilizantes. En *International Journal of Agronomy* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>

Karunarathna, et al. (2023). *Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfato y Formulación de Biofertilizantes para el Procesamiento Sustentable de Roca fosfórica*. <https://www.mdpi.com/2075-1729/13/3/782>

Kaur, R., & Kaur, S. (2020). Variación de las bacterias solubilizadoras de fosfato en suelos vírgenes y agrícolas de Punjab. *Current Microbiology*, 77(9), 2118-2127. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02080-6>

Klute A. (1986). Métodos de Análisis de Suelos. Número 9, parte 1. Métodos Físicos y Mineralógicos, Segunda Edición. *Madison, Wisconsin*, 404-408.

Lara, et al. (2011). *BACTERIAS NATIVAS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS PARA*

- INCREMENTAR LOS CULTIVOS EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA-COLOMBIA. 114-120. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6117831.pdf>
- Madigan, Bender, Buckley, •, Sattley, •, & Stahl, •. (2015). *Brock. Biología de Microorganismos*.
- Malusá, E., & Vassilev, N. (2014). Una contribución para establecer un marco legal para los biofertilizantes. En *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 98, Número 15, pp. 6599-6607). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5828-y>
- Mardad, I., Serrano, A., & Soukri, A. (2013). *Solubilización de fosfato inorgánico y producción de ácidos orgánicos por bacterias aisladas de una planta marroquí. depósito de fosfato mineral*. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1431>
- Martínez, R. (2005). *Crisis del modelo convencional global: caso agrario*. <https://www.redalyc.org/pdf/166/16614108.pdf>
- Mayadunna, et al. (2023). *Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfato y Formulación de Biofertilizantes para el Procesamiento Sustentable de Roca fosfórica*. <https://doi.org/10.3390/life13030782>
- Mayadunna, Karunarathna, S. C., Asad, S., Stephenson, S. L., Elgorban, A. M., Al-Rejaie, S., Kumla, J., Yapa, N., & Suwannarach, N. (2023). Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfato y formulación de biofertilizantes para el procesamiento sostenible de roca fosfórica. *Life*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/life13030782>
- Mixquititla, G., & Villegas, Ó. (2016). *Importancia de los fosfatos y fosfitos en la nutrición de cultivos*. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6201359.pdf>
- Nyongesa, B., Aloo, B. N., & Were, B. A. (2025). Las rizobacterias solubilizadoras de fosfato del sorgo silvestre mejoran el crecimiento del sorgo cultivado bajo

- fertilización con fosfato de roca. *Discover Sustainability*, 6(1).
<https://doi.org/10.1007/s43621-025-01175-z>
- Osorio, N. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. En *Materia orgánica biología del suelo y productividad agrícola: Segundo seminario regional comité regional eje cafetero* (pp. 43-71). Cenicafé. https://doi.org/10.38141/10791/0003_3
- Pan, & Cai. (2023). *microorganismos*.
<https://doi.org/10.3390/microorganismos11122904>
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Tinción de Gram: una breve revisión. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336-341.
<https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Paredes, M., & Espinosa, D. (2010). *ÁCIDOS ORGÁNICOS PRODUCIDOS POR RIZOBACTERIAS QUE SOLUBILIZAN FOSFATO: UNA REVISIÓN CRÍTICA*. 61-70. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20113252657>
- Patiño, C., & Sanclemente, Ó. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Entramado*, ISSN-e 1900-3803, Vol. 10, N°. 2, 2014, págs. 288-297, 10(2), 288-297.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5473598>
- Portilla, J., Ramirez, R., & Lozano, Z. (2025). Fósforo liberado por bacterias nativas de las rocas fosfóricas de Riecito (Estado Falcon) y Navay (Estado Táchira) en Venezuela. *Bioagro*, 37(1), 111-122. <https://doi.org/10.51372/bioagro371.10>
- Proyecto Life Sinergia. (2017). *Producción Respetuosa en Viticultura Impactos Ambientales en Agricultura*. <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2017/05/Impactos-ambientales-en-agricultura.pdf>

- Pulido, D., & Niño, J. (2015). *AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS ASOCIADOS AL SISTEMA PRODUCTIVO DE BANANO (Musa paradisiaca)*. https://repository.uniminuto.edu/bitstream/10656/3523/1/TIAG_PulidoAgudeloDiana_2015.pdf
- Quintana, S. V., & Estrada, J. F.-P. (1994). *AGRICULTURA SOSTENIBLE*. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1993_07.pdf
- Rojas, C., & Vásquez, V. (2021). Evaluación de bacterias endofíticas solubilizadores de fósforo en café, una alternativa sostenible. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(2), 18-26. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1363>
- Rosset, J. S., Coelho, G. F., Greco, M., Strey, L., & Gonçalves Junior, A. C. (2014). Agricultura Convencional versus Sistemas Agroecológicos: Modelos, Impactos, Avaliação da Qualidade e Perspectivas. *Scientia Agraria Paranaensis*, 13(2), 80-94. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v13n2p80-94>
- Saeed, S. W. Z., Naseer, I., Zahir, Z. A., Hilger, T., Shahid, S., Iqbal, Z., & Ahmad, M. (2023). Bacilo Cepas con enzima catalasa mejoran la fisiología y el crecimiento del arroz (Oryza sativaL.). *Stresses*, 3(4), 736-748. <https://doi.org/10.3390/stresses3040050>
- Sánchez, Mora, Wong, & Portilla. (2022). *Efecto del pH y la fuente de carbono en la solubilización de fosfato por cepas bacterianas en medio Pikovskaya*. <https://doi.org/10.3390/microorganismos11010049>
- Sanzano, A. (2019). *Cátedra de Edafología 1. INTRODUCCIÓN LOS FACTORES DE FORMACIÓN DEL SUELO*. www.edafologia.com.arwww.edafologia.org

- Shegaw, & Hailu. (2024). *Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfato de la rizosfera de lentejas (Lens culinaris M.) recolectadas en el distrito de Hagere Mariam, Etiopía central*. 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal>
- Shields, & Cathcart. (2010). *Protocolo de prueba de oxidasa*. www.onlinedoctranslator.com
- Solano. (2014). Melaninas: pigmentos de la piel y mucho más: tipos, modelos estructurales, funciones biológicas y rutas de formación. *New Journal of Science*, 2014, 1-28. <https://doi.org/10.1155/2014/498276>
- Soria, M. A. (2016). *¿Por qué son importantes los microorganismos del suelo para la agricultura?* <https://www.redalyc.org/pdf/863/863475900002.pdf>
- Soto López, I., Meléndez Balbuena, L., & Jiménez Hernández, A. (2015). *El tema de la catalasa en los diferentes niveles de enseñanza aprendizaje*.
- SSSA. (1996). *Métodos de análisis de suelos. Parte 3: métodos químicos*. 487-488. <https://doi.org/10.2136/SSSABOOKSER5.3>
- Stratford, J. P., Woodley, M. A., & Park, S. (2013). Variación en la morfología de *Bacillus mycoides* Debido a la fuerza aplicada y la estructura del sustrato. *PLoS ONE*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081549>
- Ulibarry, P. G. (2023). *Agricultura sostenible Agricultura climáticamente inteligente, ecológica, biodinámica, biointensiva y regenerativa Autor*. https://www.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/35667/1/Agricultura_sostenible.pdf
- Vargas-Barrante, P., Castro-Barquero, L., Vargas-Barrante, P., & Castro-Barquero, L. (2019). Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo

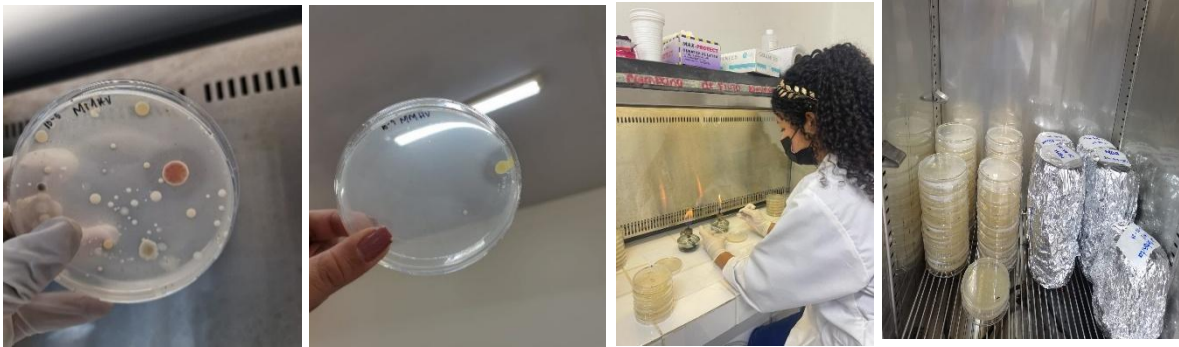
de Andisoles de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 43(1), 47-68.
<https://doi.org/10.15517/RAC.V43I1.35649>

Vistoso; Martínez. (2022). *Importancia de la fertilidad del suelo en la producción agropecuaria*. <https://biblioteca.inia.cl/bitstreams/32121df6-118b-489f-b4fa-978ab7e3cd1d/download>

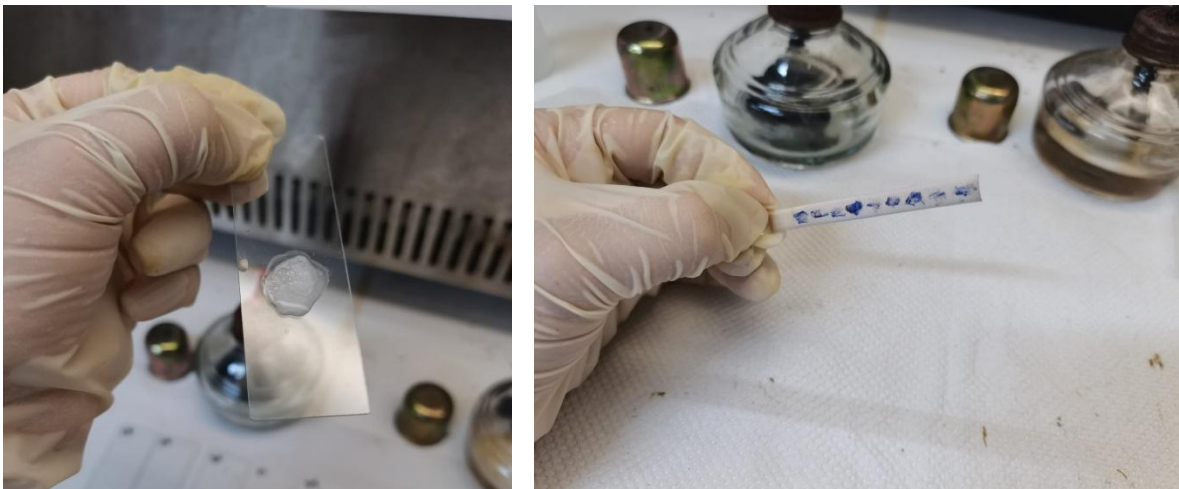
Walkley, A., & Black, A. (1934). Un examen del método de Degtjareff para determinar la materia orgánica del suelo y una modificación propuesta del método de titulación con ácido crómico. *Soil Science*, 37(1), 29-38.
<https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>

ANEXOS

Anexo 1. Microorganismos aislados



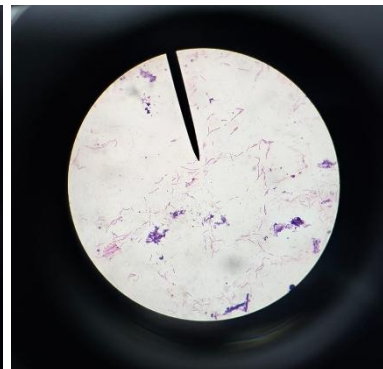
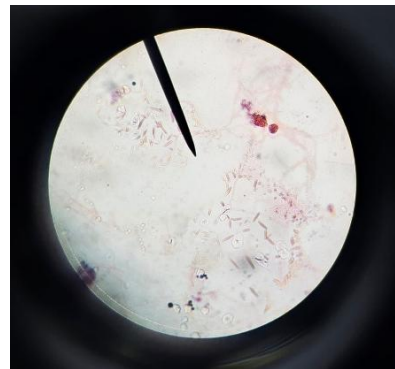
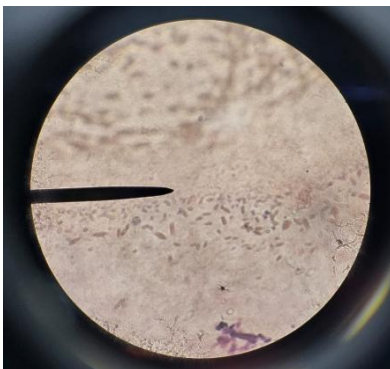
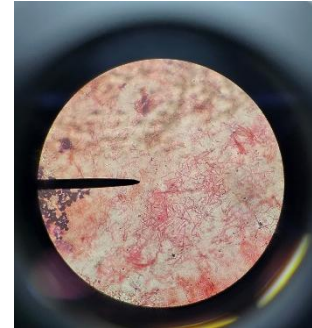
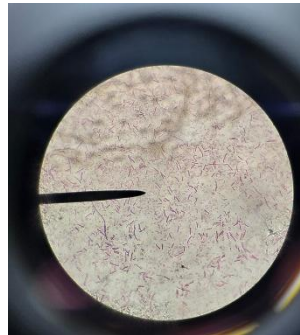
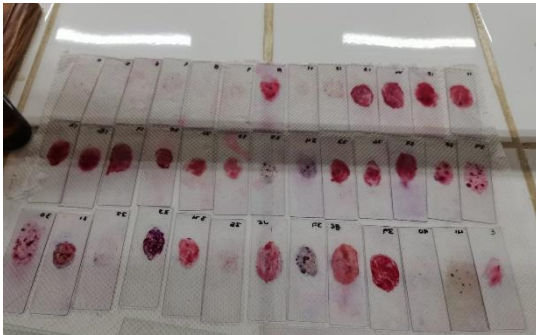
Anexo 2. Pruebas de catalasa y Oxidasa



Anexo 3. Pruebas de fermentación de Kligler



Anexo 4. Prueba de Tinción de Gram



Anexo 5. Recuento de UCF



Anexo 6. Pruebas de Solubilidad de fósforo

