



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERIA, INDUSTRIA
Y CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS QUE INTERVIENEN
EN LA SOLUBILIZACIÓN DEL FÓSFORO COMO BASE PARA
PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERA AMBIENTAL**

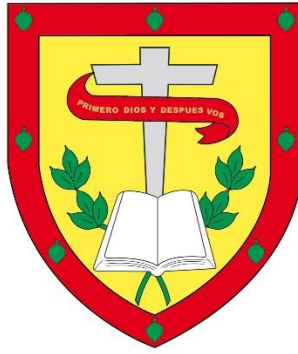
AUTOR: MARIELA CRISTINA PINOS SAQUINAULA

DIRECTOR: BLGA. MARJORIE JAZMÍN SALAZAR ORELLANA

CUENCA - ECUADOR

2023

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERÍA INDUSTRIA
Y CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS QUE INTERVIENEN
EN LA SOLUBILIZACIÓN DEL FÓSFORO COMO BASE PARA
PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERA AMBIENTAL**

AUTOR: MARIELA CRISTINA PINOS SAQUINAULA

DIRECTOR: BLGA. MARJORIE JAZMÍN SALAZAR ORELLANA

CUENCA – ECUADOR

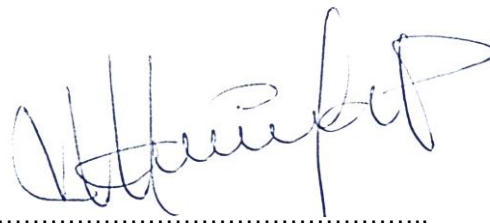
2023

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD

Mariela Cristina Pinos Saquinaula portador de la cédula de ciudadanía N.º 0106078660. Declaro ser el autor de la obra: "Identificación de cepas bacterianas que intervienen en la solubilización del fósforo como base para procesos de biorremediación", sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 23 de octubre de 2023



F:

Mariela Cristina Pinos Saquinaula

0106078660

www.ucacue.edu.ec

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Mariela Cristina Pinos Saquinaula, bajo mi supervisión.

**MARJORIE
JAZMIN
SALAZAR
ORELLANA** Firmado
digitalmente por
MARJORIE JAZMIN
SALAZAR
ORELLANA
Fecha: 2023.10.17
23:23:28 -05'00'

Blga. Marjorie Jazmín Salazar Orellana

DIRECTORA

hermano, cuya presencia me ha brindado fuerza en los momentos difíciles; y a mis abuelos, cuyos consejos y sabiduría han iluminado mi camino en esta travesía académica. Este trabajo es un tributo a su amor y confianza en mí. Gracias por ser mi luz en este camino.

AGRADECIMIENTOS

A mis queridos padres, Víctor y Patricia, por el apoyo incondicional y el cariño que me han brindado a lo largo de mi vida. Su presencia constante ha sido la mayor fortaleza en mi camino, y en particular, a mi mamá, por ser una madre extraordinaria. Tu devoción y amor inquebrantables han sido la brújula que me ha guiado en este viaje académico. Cada paso que he dado, cada logro que he alcanzado, lleva impreso tu influencia y sabiduría. Esta tesis no es solo un documento académico, sino también un tributo a la mujer excepcional que eres.

Tu apoyo y amor no solo me han sostenido en los momentos difíciles, sino que también me han inspirado a superar obstáculos y a perseguir mis sueños con pasión y determinación. A través de estas palabras, quiero agradecerte desde lo más profundo de mi corazón.

A mi hermano querido, Xavier, quien siempre ha sido mi aliado y cómplice en cada etapa de la vida. Tu confianza en mí me ha inspirado a superar los desafíos y a perseguir mis sueños.

A mis amados abuelos, especialmente a mi abuelo Humberto, cuyo legado de tenacidad y sabiduría sigue viviendo en mí, aunque físicamente ya no esté aquí y a mi abuela Luisa, cuya presencia continua y es un faro de luz en mi camino.

A mi tutora de tesis, Jazmín Salazar, a quien le debo una de las experiencias más enriquecedoras de mi vida académica. Su orientación, sabiduría y paciencia fueron fundamentales para este logro.

A Maru, que fue un pilar esencial en el desarrollo de esta tesis. Su apoyo y ánimo me guiaron a través de los desafíos.

A mis queridos compañeros de clases, Erika, Eduarda y Mateo, quienes compartieron conmigo los momentos más memorables de nuestra carrera. Juntos, enfrentamos desafíos y celebramos éxitos, a mis amigas de toda la vida, su amistad ha sido un regalo invaluable Verónica, Paola, Pamela y Vielka, quienes han estado a mi lado en todo momento, brindándome su apoyo inquebrantable.

Esta tesis es el resultado de la dedicación y el apoyo de cada uno de ustedes. Agradezco profundamente su influencia positiva en mi camino académico y personal. Sin su amor, aliento y amistad, este logro no habría sido posible.

Con amor y cariño,

Mariela

RESUMEN

El fósforo es un elemento principal para el desarrollo de las plantas, no obstante, su presencia en el suelo es reducida y puede agotarse debido a diversos procesos naturales como la erosión, la lixiviación y la fijación. Este estudio se enfocó en reactivar 67 cepas bacterianas que forman parte de la micoteca Ruth Moore, ubicada en el centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología (CIITT). El objetivo principal fue identificar cepas bacterianas capaces de solubilizar el fósforo, utilizando el medio de cultivo específico conocido como NBRIP (Medio de fosfatos del National Botanic Research Institute). Los resultados obtenidos a través de los halos formados por estas cepas bacterianas permitieron identificar un total de 40 especies con la capacidad de solubilizar el fósforo. Al realizar una revisión bibliográfica, se lograron clasificar estas especies en diferentes categorías: se encontraron 9 especies previamente catalogadas por quien y nombres como solubilizadoras de fósforo, 19 especies catalogadas como patógenas, 3 especies reportadas como no solubilizadoras de fósforo, sin embargo, son utilizadas en diferentes procesos de biorremediación y 9 especies que carecían de información sobre su habilidad para disolver el fósforo. De manera destacada, a través de esta revisión bibliográfica, se confirmó que la especie *Pseudomonas fluorescens* se distingue como la más efectiva y ampliamente empleada en la creación de bioinsumos.

Palabras clave: Solubilización del fósforo, técnicas de laboratorio, NBRIP (Medio de fosfatos del National Botanic Research Institute), fósforo.

ABSTRACT

Phosphorus is a fundamental element for plant development; however, its presence in the soil is limited and can be depleted due to various natural processes such as erosion, leaching, and fixation. This study focused on reactivating 67 bacterial strains from the Ruth Moore mycotheque at the Center for Research, Innovation, and Technology Transfer (CIITT by its Spanish acronym). The main objective was to identify bacterial strains capable of solubilizing phosphorus using the specific culture medium known as NBRIP (National Botanic Research Institute's phosphate growth medium). The results obtained through the halos formed by these bacterial strains allowed the identification of 40 species with the ability to solubilize phosphorus. A literature review was conducted to categorize these species into different groups: 9 species were previously identified by name as phosphorus solubilizers, 19 species were categorized as pathogenic, and three species were reported as non-solubilizers of phosphorus. However, they are used in various bioremediation processes and nine species lacked information regarding their ability to dissolve phosphorus. Notably, this literature review confirmed that *Pseudomonas fluorescens* stands out as the most effective and widely used in the production of bio inputs.

Keywords: phosphorus solubilization, laboratory techniques, NBRIP (National Botanic Research Institute's phosphate growth medium), phosphorus

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y RESPONSABILIDAD.....	I
CERTIFICACIÓN	II
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT.....	V
ÍNDICE DE CONTENIDOS	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE ANEXOS.....	XI
CAPÍTULO I.....	- 1 -
1 INTRODUCCIÓN.....	- 1 -
1.1 OBJETIVOS.....	- 3 -
1.1.1 <i>Objetivo general</i>	- 3 -
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i>	- 3 -
CAPÍTULO II.....	- 4 -
2 REVISIÓN DE LITERATURA	- 4 -
2.1 CEPAS BACTERIANAS	- 4 -
2.2 SOLUBILIZACIÓN DEL FÓSFORO	- 4 -
2.3 BIORREMEDIACIÓN.....	- 4 -
2.3.1 <i>Biorremediación del fósforo</i>	- 5 -
2.4 SUELO	- 5 -
2.4.1 <i>Contaminación del suelo</i>	- 5 -
2.4.2 <i>Suelos contaminados con fósforo</i>	- 6 -
2.4.3 <i>Biorremediación del fósforo</i>	- 6 -
2.4.4 <i>Las propiedades del suelo como hábitat microbiano</i>	- 6 -
2.4.5 <i>Mecanismo de solubilización de fósforo en el suelo</i>	- 7 -
2.5 FÓSFORO COMO ELEMENTO QUÍMICO	- 7 -
2.5.1 <i>Ciclo del fósforo</i>	- 7 -
2.5.2 <i>Tipos de fósforo presente en el suelo</i>	- 8 -
2.6 MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO.....	- 9 -
2.6.1 <i>Géneros de microorganismos solubilizadores de Fósforo</i>	- 9 -
2.6.2 <i>Producción de ácidos orgánicos</i>	- 10 -
2.7 CULTIVO DE MICROORGANISMOS EN EL LABORATORIO	- 11 -
2.8 BIOINSUMOS.....	- 11 -
2.8.1 <i>Bioinsumos solubilizadores de fósforo</i>	- 11 -
2.9 TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS.....	- 11 -

2.9.1	<i>El cultivo microbiano</i>	- 11 -
2.9.2	<i>Tinción de Gram</i>	- 12 -
2.9.3	<i>La microscopía</i>	- 12 -
2.10	MEDIOS DE CULTIVO.....	- 12 -
2.10.1	<i>Medio de cultivo para los microorganismos solubilizadores de fósforo o NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium)</i>	- 13 -
CAPÍTULO II		- 14 -
3	MATERIALES Y MÉTODOS	- 14 -
3.1	REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS.....	- 14 -
3.2	ELABORACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO NBRIP.....	- 15 -
3.3	SIEMBRA DE LAS BACTERIAS EN EL MEDIO NBRIP (MEDIO DE FOSFATOS DEL NATIONAL BOTANIC RESEARCH INSTITUTE).....	- 17 -
3.4	TINCIÓN DE GRAM.....	- 18 -
3.5	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS BACTERIAS (DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA).....	- 19 -
3.6	REVISIÓN DE REQUISITOS DE CEPAS BACTERIANAS COMO BASE PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIOINSUMO.....	- 19 -
CAPÍTULO IV		- 21 -
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 21 -
4.1	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CEPAS BACTERIANAS.....	- 21 -
4.1.1	<i>Descripción micro morfológica de las cepas bacterianas</i>	- 24 -
4.2	BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO.....	- 26 -
4.3	REQUISITOS PARA PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN.....	- 28 -
CAPÍTULO V		- 37 -
5	CONCLUSIONES	- 37 -
CAPÍTULO VI		- 38 -
6	RECOMENDACIONES	- 38 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		- 39 -
ANEXOS		- 44 -

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Disolución de compuestos inorgánicos de fósforo mediante la generación de ácidos orgánicos.....</i>	- 4 -
Figura 2. <i>Ciclo del fósforo.....</i>	- 8 -
Figura 3. <i>Reactivación de las cepas bacterianas en el laboratorio mediante estrictas medidas de asepsia.....</i>	- 15 -
Figura 4. <i>Cepas bacterianas reactivadas en medio de cultivo de Agar específico mediante la técnica de estriado por agotamiento</i>	- 15 -
Figura 5. <i>Medio de cultivo NBRIP antes del ciclo de esterilización</i>	- 16 -
Figura 6. <i>Medio de cultivo NBRIP después del ciclo de esterilización.....</i>	- 17 -
Figura 7. <i>Crecimiento de la bacteria Acinetobacter iwoffii A= Halo de solubilización 20 mm B= Bacteria en crecimiento C= Medio de cultivo NBRIP</i>	- 18 -
Figura 8. <i>Caracterización de la superficie en porcentajes de las Cepas Bacterianas</i>	- 21 -
Figura 9. <i>Caracterización de la forma de las cepas bacterianas en porcentaje</i>	- 22 -
Figura 10. <i>Caracterización de los bordes de las cepas bacterianas en porcentaje</i>	- 22 -
Figura 11. <i>Identificación de los colores de las cepas bacterianas en porcentaje</i>	- 23 -
Figura 12. <i>Especificación de la tonalidad de las cepas bacterianas en porcentaje</i>	- 23 -
Figura 13. <i>Caracterización del tamaño de las cepas bacterianas en porcentaje.....</i>	- 24 -
Figura 14. <i>Representación de las Bacterias Gran Positivas en porcentaje</i>	- 25 -
Figura 15. <i>Representación de las bacterias Gram negativas en porcentaje</i>	- 25 -
Figura 16. <i>A) Bacteria que no solubiliza el fósforo, no existe viraje de color, B) Bacteria solubilizadora de fósforo, existe viraje de color y halo de color amarillo</i>	- 27 -
Figura 17. <i>Representación gráfica del tamaño diámetro del halo de solubilización ubicados de mayor a menor con su respectivo nombre de la cepa bacteriana</i>	- 28 -
Figura 18. <i>Gráfico del número de bacterias solubilizadoras de fósforo, patógenas, bacterias que son empleadas en procesos de biorremediación y bacterias que carecen de información como solubilizadoras de fósforo.....</i>	- 36 -
Figura 19. <i>Bacteria almacenada en el centro de investigación</i>	- 52 -
Figura 20. <i>Reactivación de cepas bacterianas en la cámara de flujo laminar</i>	- 53 -
Figura 21. <i>Crecimiento de las bacterias reactivadas con sus diferentes formas colores y tamaños</i>	- 53 -
Figura 22. <i>Crecimiento de las bacterias reactivadas con sus diferentes formas y colores.</i>	- 54 -
Figura 23. <i>Siembra de las bacterias en el medio de cultivo NBRIP.....</i>	- 55 -
Figura 24. <i>Crecimiento de las bacterias en el medio de cultivo NBRIP.....</i>	- 56 -
Figura 25. <i>En el medio de cultivo NBRIP, se observa el crecimiento de las bacterias en las primeras filas, acompañado de un cambio de color, mientras que al final se encuentran las bacterias que no han experimentado crecimiento y que mantienen su color original, que es azul. ...</i>	- 56 -

Figura 26. Evolución del crecimiento bacteriano en función del tiempo establecido. **A)** Desarrollo de un halo alrededor de la bacteria, indicando su capacidad de solubilizar fósforo. **B)** Bacteria que no muestra esta capacidad de solubilización de fósforo. - 57 -

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Lista de géneros de microorganismos solubilizadores de fósforo.....	- 9 -
Tabla 2. Principales ácidos orgánicos generados por microorganismos que solubilizan el fósforo ..	- 10 -
Tabla 3 Reactivos y cantidades para la preparación del medio de cultivo específico NBRIP....	- 16 -
Tabla 4 Orden y tiempo de colorantes para la tinción de Gram.....	- 18 -
Tabla 5. Lista de bacterias reportadas como solubilizadoras de fósforo de acuerdo a una revisión bibliográfica.....	- 30 -
Tabla 6. Lista de bacterias patógenas de acuerdo a una revisión bibliográfica.....	- 32 -
Tabla 7. Lista de bacterias utilizadas en procesos de biorremediación de acuerdo a una revisión bibliográfica.....	- 35 -

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1** Lista de Bacterias proporcionada para su respectiva reactivación en el laboratorio _ - 44 -
- Anexo 2.** Cuadro de las características morfológicas de las bacterias reactivadas con su respectivo código _____ - 45 -
- Anexo 3.** Lista de las Bacterias Gram positivas que fueron analizadas mediante tinción de gram - 48 -
- Anexo 4.** Lista de las Bacterias Gram Negativas que fueron analizadas mediante tinción de gram - 49 -
- Anexo 5.** Lista de bacterias que demostraron su capacidad para solubilizar fósforo, identificados mediante la observación de un halo de crecimiento y su diámetro. _____ - 50 -
- Anexo 6.** Información acerca de las bacterias que han evidenciado su capacidad para solubilizar el fósforo. _____ - 51 -
- Anexo 7.** Fotografías del proceso de reactivación y clasificación de las cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo mediante el halo de crecimiento _____ - 52 -

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

El aumento del nivel de fósforo en el suelo es un problema que se refiere a la minimización de fósforo utilizable para las plantas y cultivos (Echeverri, 2018). Se puede decir que es un nutriente fundamental para las plantas, también es un componente clave de los fertilizantes. Sin embargo, el fósforo es un recurso agotable y su disponibilidad en el suelo puede verse comprometida debido a procesos naturales como: la erosión, la lixiviación y la fijación. La fijación del fósforo en el suelo es otro problema común, ya que puede combinarse con otros elementos y formar compuestos que no pueden ser asimilados por la flora, lo que reduce su disponibilidad. Esto puede ocurrir cuando el fósforo se combina con elementos como: el calcio, el hierro o el aluminio, lo que provoca su disponibilidad para las plantas (Fernández et al., 2005).

La congregación de fósforo por el uso excesivo de pesticidas puede tener varias consecuencias negativas en la condición del suelo y el bienestar del ecosistema (Constanza et al., 2014). Los pesticidas que contienen fósforo, pueden descomponerse en el suelo y liberarse en grandes cantidades. El fósforo puede aumentar la acidez del suelo, lo que puede disminuir la disposición de nutrientes para las plantas y microorganismos benéficos. Además, pueden ser absorbidos por las plantas bajo la forma de fosfatos solubles inorgánicos, que incluyen iones monobásicos (H_2PO_4^-) y dibásicos (HPO_4^{2-}) lo que puede llevar a una acumulación de fosfatos en hojas y frutos, lo que simboliza un peligro para las personas y la seguridad alimentaria (Beltrán, 2014).

La biorremediación, una estrategia basada en microorganismos, se ha convertido en una alternativa valiosa para abordar problemas ambientales relacionados con la acumulación de fósforo en el suelo. Esta técnica utiliza bacterias solubilizadoras de fósforo que pueden liberar el fósforo del suelo, quedando nuevamente disponible para las plantas. Estas bacterias desempeñan un papel esencial en la restauración de áreas degradadas y la mejora de la calidad del suelo (Environmental & Agency, 2018).

Cabe considerar, por otra parte, que la acumulación de fósforo puede promover la eutrofización de los cuerpos de agua cercanos. Cuando estos se lavan del suelo por la lluvia o el riego, pueden llegar a los ríos, lagos y océanos y causar una proliferación excesiva de algas y otras plantas acuáticas. Esto puede disminuir la calidad del agua y afectar la vida marina (Beltrán, 2014).

Con estos antecedentes los estudios sobre bacterias solubilizadoras de fósforo se han realizado desde la década de 1930, y se han utilizado con el fin de enriquecer el suelo y el incremento en el progreso de los cultivos. Los primeros estudios se centraron en la identificación y

caracterización de las bacterias que liberan fósforo y se encontró que pertenecían a una amplia variedad de géneros bacterianos, incluyendo *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Rhizobium* (Munera & Meza, 2012).

En la década de 1970 se descubrió algunas bacterias solubilizadoras de fósforo lo que las convierte en bacterias beneficiosas para la agricultura. Desde entonces, se han realizado múltiples investigaciones sobre la interacción de estas bacterias solubilizadoras de fósforo que pueden potenciar la atracción de nutrientes por las plantas, mejorar la tolerancia a la sequía y elevar la calidad del suelo (Barrios et al., 2010).

En la actualidad las bacterias solubilizadoras de fósforo se utilizan en muchos programas de manejo de suelos y se han desarrollado productos comerciales que contienen estas bacterias para su uso en la agricultura y la horticultura. En otro estudio publicado en 2017 Se analizó la aptitud de bacterias aisladas de suelos de la provincia de Pichincha para solubilizar fósforo, en la región andina del Ecuador. Los resultados mostraron que todas la cepas bacterianas aisladas presentaban capacidad para solubilizar fósforo inorgánico, y que algunas de ellas también eran capaces de producir sideróforos para las plantas (Pincay et al., 2017).

En general, los estudios sobre bacterias solubilizadoras de fósforo en el Ecuador son limitados, pero los resultados indican que existen cepas bacterianas en suelos agrícolas de diferentes regiones del país con capacidad para solubilizar fósforo inorgánico y generar sustancias que pueden favorecer el desarrollo de las plantas.

Esta investigación se origina debido a la carencia de información acerca de los microorganismos y su papel en la remediación ambiental, en particular, las bacterias solubilizadoras de fósforo inorgánico, que poseen la habilidad de liberar el fósforo del suelo. El objetivo de este estudio es identificar las cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo entre un total de 67 cepas que serán reactivadas a través de técnicas bioquímicas. Estas cepas bacterianas fueron previamente aisladas de diferentes medios y forman parte de la Micoteca para la supervivencia de la biodiversidad Ruth Moore del centro de investigación, innovación y transferencia de tecnología (CIITT). De este modo se busca contribuir al conocimiento sobre estos microorganismos y su capacidad para restaurar zonas degradadas.

En el marco de este estudio se llevó a cabo la reactivación de las 67 cepas bacterianas con el fin de evaluar su capacidad como solubilizadoras de fósforo. Para ello, se utilizaron medios de cultivo específicos diseñados para evaluar su capacidad de solubilización y se realizó una descripción detallada de su morfología. Además, se evaluó el potencial de estas cepas como bioinsumos para promover el desarrollo de las plantas. De esta manera, se espera contribuir al conocimiento sobre estos microorganismos y su capacidad para regenerar zonas degradadas.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

- Identificar las cepas bacterianas que intervienen en la solubilización del fósforo como base para procesos de biorremediación.

1.1.2 Objetivos específicos

- Describir morfológicamente las cepas bacterianas reactivadas que forman parte de la Micoteca para la conservación de la Biodiversidad Ruth Moore del CIITT.
- Verificar que especies bacterianas son las que solubilizan el fósforo orgánico a fosfatos mediante el empleo de medios de cultivo específicos.
- Verificar cuales de las especies bacterianas que solubilizan el fósforo cumplen con los requisitos como base para la elaboración de un bioinsumo, mediante revisión bibliográfica

CAPÍTULO II

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Cepas bacterianas

Las cepas bacterianas son grupos de bacterias que comparten características biológicas similares y pertenecen a la misma especie (Acuña et al., 2010). Estas cepas pueden tener diferencias en su capacidad para causar enfermedades, fijar fósforo, descomponer hidrocarburos o promover el crecimiento de las plantas. La variación genética entre las cepas bacterianas puede afectar su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales y realizar funciones específicas. Las cepas bacterianas son poblaciones de microorganismos de una sola especie que se originan de una única célula (Neira et al., 2020).

2.2 Solubilización del fósforo

Los microorganismos cumplen una función esencial en la transformación de fósforo inorgánico en formas asimilables para las plantas. Esta transformación es facilitada principalmente por medio de la generación de ácidos orgánicos como el ácido nítrico y el ácido sulfúrico. Hay dos formas principales en las que ocurre esta solubilización: una es a través de la gestión directa de los ácidos orgánicos generados por las bacterias, y la otra implica la formación de complejos entre los elementos responsables de la insolubilización del fósforo (Teresa et al., 2019).

Un proceso adicional de solubilización se da en el momento en que los microorganismos incorporan fósforo insoluble en sus células, lo que resulta en la acumulación interna de estos compuestos; luego, estos microorganismos liberan el fósforo en formas solubles de manera posterior. La solubilización en el suelo se ve favorecida por ciertas condiciones, como un pH bajo, niveles bajos de calcio y una alta concentración de materia orgánica. El grado de fósforo presente en el suelo influye en la eficacia de este mecanismo de solubilización (Rincón & Bobadilla, 2008).

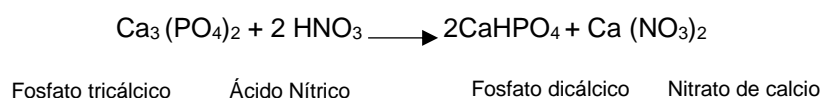


Figura 1. Disolución de compuestos inorgánicos de fósforo mediante la generación de ácidos orgánicos

Fuente:(Alexander, 1987).

2.3 Biorremediación

La biorremediación es un procedimiento que emplea microorganismos, plantas o enzimas con el fin de descomponer o eliminar contaminantes del entorno. Los contaminantes que pueden ser productos químicos tóxicos, petróleo y otros hidrocarburos, metales pesados, compuestos orgánicos volátiles y muchos otros. Los microorganismos utilizados en la biorremediación son seleccionados

por su capacidad para degradar los contaminantes específicos que se encuentran en el medio ambiente. Estos microorganismos pueden ser bacterias, hongos u otros organismos que utilizan los contaminantes como recurso de alimento y energía (Environmental & Agency, 2018).

La biorremediación es un método que utiliza microorganismos, plantas o enzimas para degradar o eliminar contaminantes del medio ambiente, y se ha utilizado con éxito para limpiar suelos contaminados, aguas subterráneas, ríos, lagos y otros ambientes contaminados. La biorremediación puede ser una alternativa más efectiva y menos costosa que los métodos de remediación convencionales, como la excavación y eliminación de tierra contaminada. Sin embargo, la biorremediación también tiene limitaciones, como la dificultad para controlar y predecir la conducta de los microorganismos en el medio ambiente, la necesidad de condiciones ambientales específicas y la necesidad de un control constante del proceso de biorremediación (Madigan et al., 2015).

2.3.1 Biorremediación del fósforo

La biorremediación del fósforo es un proceso que utiliza microorganismos para degradar o eliminar los excesos de este elemento químico del medio ambiente. Una técnica común en la biorremediación del fósforo es la utilización de bacterias que pueden disolver el fósforo inorgánico existente en el suelo y sedimentos acuáticos, transformándolo de una forma asimilable por las plantas. Otra técnica es la utilización de microorganismos que pueden degradar compuestos orgánicos que contienen fósforo, como el fosfato de arilo, que se encuentra en algunos plaguicidas y otros productos químicos. La biorremediación del fósforo puede ser una alternativa efectiva y económica para la eliminación de este elemento químico en el medio ambiente. Es importante tener en cuenta que cada situación de contaminación requiere un enfoque específico y cuidadoso para garantizar la efectividad y seguridad del proceso de biorremediación (Hernández et al., 2017; Madigan et al., 2015).

2.4 Suelo

Es el material suelto presente en la superficie terrestre, resultado de complejas interacciones entre factores geológicos, topográficos, climáticos y la influencia de organismos vivos. Constituye una capa separada de la roca madre subyacente y se divide en dos categorías principales: suelos minerales, formados por la erosión de rocas y materiales inorgánicos, y suelo orgánico, originado a partir de la sedimentación en áreas húmedas. Por ello se puede mencionar que son una combinación de ambos tipos, aunque los suelos minerales prevalecen en la mayoría de los entornos terrestres debido a que los suelos orgánicos almacenan carbono, también desempeña un papel importante en el soporte de las plantas y la provisión de nutrientes necesarios para su crecimiento, lo que lo convierte en una estructura fundamental para la vida en la Tierra (Madigan et al., 2015).

2.4.1 Contaminación del suelo

La polución constituye una cuestión inquietante que incide en la calidad de la tierra y el bienestar humano. Según Amjad et al. (2017), se trata de una problema global que tiene un notable efecto en la seguridad alimentaria, el bienestar humano y la diversidad biológica. Además, Yang et al.(2014),

resaltan que la contaminación del suelo a causa de metales pesados personifica una escalona inminencia para la salud de los humanos y el entorno. En términos generales, la polución del suelo es un problema ambiental que demanda medidas preventivas y correctivas eficaces para minimizar su impacto negativo en el ecosistema y la resistencia de la población.

2.4.2 Suelos contaminados con fósforo

El exceso de aplicación de fertilizantes con fósforo en suelos agrícolas y áreas de producción ganadera intensiva puede provocar su contaminación. El fósforo puede infiltrarse en aguas subterráneas o ser arrastrado por la escorrentía hacia cuerpos de agua superficiales, lo que causa eutrofización y altas concentraciones de fósforo. Estas condiciones pueden desencadenar problemas ambientales y de salud pública. Además, estos fertilizantes contienen diversos metales pesados como: arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), plomo (Pb) y zinc (Zn), que tienen la capacidad de desintegrar la materia orgánica y ejercen un impacto sobre la composición y las funciones de la comunidad microbiana, así como sobre los niveles de acidez y salinidad del mismo (Rodríguez et al., 2019).

2.4.3 Biorremediación del fósforo

La biorremediación del fósforo es un proceso que utiliza microorganismos para degradar o eliminar los excesos de este elemento químico del medio ambiente. Una técnica común en la biorremediación del fósforo es la utilización de bacterias que pueden disolver el fósforo inorgánico existente en el suelo y sedimentos acuáticos, transformándolo de una forma asimilable por las plantas. Otra técnica es la utilización de microorganismos que pueden degradar compuestos orgánicos que contienen fósforo, como el fosfato de arilo, que se encuentra en algunos plaguicidas y otros productos químicos. La biorremediación del fósforo puede ser una alternativa efectiva y económica para la eliminación de este elemento químico en el medio ambiente. Es importante tener en cuenta que cada situación de contaminación requiere un enfoque específico y cuidadoso para garantizar la efectividad y seguridad del proceso de biorremediación (Hernández-Ruiz et al., 2017; Madigan et al., 2015).

2.4.4 Las propiedades del suelo como hábitat microbiano

Los elementos limitantes en los suelos son el fósforo y el nitrógeno, que son componentes esenciales. La actividad microbiana en el suelo está influida por la disponibilidad de agua, lo cual aumenta el incremento de los microbios. La cuantía de agua en el suelo varía de acuerdo a su composición, las precipitaciones, el drenaje y la cobertura vegetal. El agua se retiene en el suelo de dos maneras: al adherirse a las superficies o como agua libre en delgadas capas entre las partículas del suelo. La humedad presente en los suelos contiene materiales disueltos y se conoce como solución edáfica. En suelos bien drenados, el aire penetra con facilidad y la concentración de oxígeno en la solución edáfica puede ser elevada. Estos suelos experimentan cambios en su actividad biológica y se tornan inadecuados para los ecosistemas de agua dulce cuando se vuelven anóxicos (Madigan et al., 2015).

2.4.5 Mecanismo de solubilización de fósforo en el suelo

La asimilación del fósforo en el suelo se logra mediante ácidos orgánicos de bajo peso molecular, como el butírico, oxálico, y otros. Estos provienen de fuentes como el fosfato di cálcico y diversas rocas fosfóricas. Estos ácidos aumentan la acidez del suelo, facilitando la absorción de fósforo por las plantas. Además, al tener carga negativa, pueden formar complejos con iones metálicos como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} , comúnmente ligados al fósforo insoluble, convirtiéndolo en una forma soluble para las plantas. Las bacterias descomponen el fosfato tricálcico, liberando fósforo mediante la vía metabólica de la glucosa. Estos procesos son cruciales para la nutrición de las plantas en el suelo (Constanza et al., 2014).

2.5 Fósforo como elemento químico

El fósforo es esencial para la vida y se encuentra en forma de fosfatos en la naturaleza. Es crucial para el ADN y el ARN. También es muy reactivo y se utiliza en la industria para hacer fertilizantes, detergentes, ácido fosfórico y más. Sin embargo, su exceso en el medio ambiente puede ser dañino, por lo que debemos controlar su uso y evitar liberarlo en grandes cantidades (Munera & Meza, 2012).

2.5.1 Ciclo del fósforo

El fósforo se encuentra en la naturaleza en forma orgánica e inorgánica, como rocas con fosfatos disueltos en agua dulce y salada, ácidos nucleicos y fosfolípidos en organismos vivos. El ciclo del fósforo implica su reciclaje a través de organismos vivos, agua, suelo y la corteza terrestre. En los ambientes de agua dulce, el fósforo suele ser el factor limitante para la fotosíntesis y se libera a través de la meteorización de rocas. En el mar, una fracción del fósforo disuelto se encuentra en forma orgánica, como ésteres de fosfatos y fosfonatos. Algunos organismos pueden tener limitaciones de fósforo si no pueden degradar fosfonatos debido a la falta de enzimas adecuadas. Además, la degradación de metil fosfonato por ciertos microorganismos marinos puede explicar la presencia de altas concentraciones de metano en aguas de superficie oxigenadas en el mar. En resumen, el ciclo del fósforo implica su presencia en diferentes formas en la naturaleza y su reciclaje a través de los ecosistemas, siendo esencial para la vida y la fotosíntesis (Madigan et al., 2015).

En la figura 1 se representa de manera visual el proceso del ciclo del fósforo.

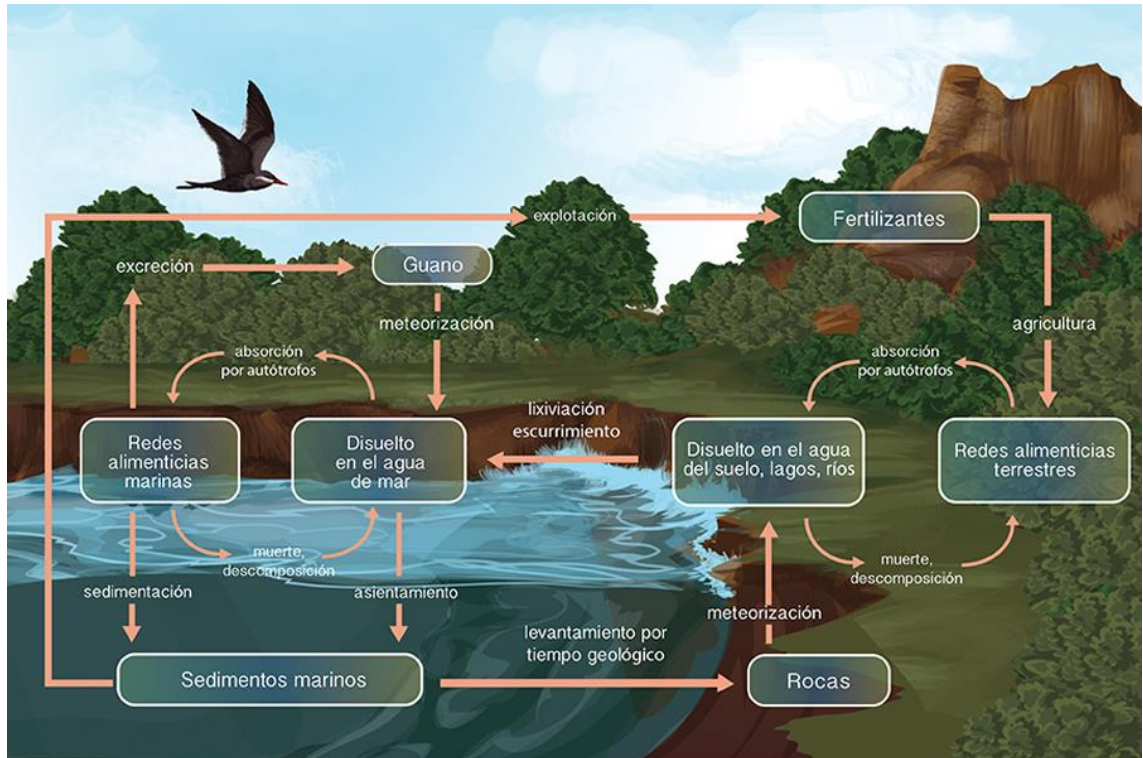


Figura 2. Ciclo del fósforo

Fuente: (Portal académico CCH, 2022)

2.5.2 Tipos de fósforo presente en el suelo

Están diversos tipos de fósforo por lo tanto se consiguen categorizar como fósforo inorgánico y orgánico. La comercialización de las distintas convenciones de fósforo en el suelo está condicionada por múltiples variables, que incluye la clase de suelo, nivel de pH, vegetación, actividad microbiana y la aplicación de fertilizantes (Echeverri, 2018).

2.5.2.1 Fósforo inorgánico

El fósforo inorgánico se encuentra como: apatitas, hidroxiapatitas y oxiapatitas. Estas convenciones de fósforo no son directamente utilizables por las plantas, ya que son insolubles y su solubilización es extremadamente lenta. Sin embargo, algunas bacterias tienen la capacidad de solubilizar el fósforo inorgánico mediante la elaboración de ácidos orgánicos, como: el ácido glucónico, que libera fosfatos y cationes al suelo en formas considerables como nutritivas por las plantas (Constanza et al., 2014).

2.5.2.2 Fósforo orgánico

Se encuentra en residuos de plantas y animales, es descompuesto por microorganismos que viven en el suelo. Estos microorganismos hidrolizan el fósforo orgánico a través de enzimas, liberando fósforo que luego puede ser asimilado por las plantas (Constanza et al., 2014).

2.6 Microorganismos solubilizadores de fósforo

Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF) fomentan el desarrollo de las plantas y tienen la capacidad de liberar fósforo inorgánico, lo que permite su asimilación por las raíces de las plantas. Los MSF se hallan de manera general en el suelo, pero se concentran especialmente en la rizosfera, donde se hallan cepas tanto aeróbicas como anaeróbicas. Las bacterias son los microorganismos predominantes en la solubilización de fósforo mineral en los suelos. Además, los MSF pueden exhibir actividades que benefician el desarrollo de las plantas, como la producción de ácido indolacético, ácido giberélico, citoquininas, etileno, ácido cianhídrico, la capacidad de fijar nitrógeno y la resistencia de patógenos del suelo. Estas características son esenciales para que un microorganismo sea empleado en un bioinsumo eficaz (Beltrán, 2014).

2.6.1 Géneros de microorganismos solubilizadores de Fósforo

La Tabla 1 proporciona información sobre los géneros de bacterias que poseen la capacidad de solubilizar el fósforo.

Tabla 1 Lista de géneros de microorganismos solubilizadores de fósforo

Géneros	Descripción
<i>Pseudomonas</i>	Es un bacilo gramnegativo que pertenece a la familia Pseudomonadaceae. Esta bacteria no fermenta glucosa, es catalasa positiva, tiene flagelos polares, no forma esporas. El género comprende numerosas especies, como <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> y <i>P. putida</i> , y algunos pueden vivir a bajas temperaturas o producir pigmentos como la piocianina, la fluoresceína y la piorrubina. Además, es común que tengan plásmidos (Pinzón, 2019).
<i>Enterobacter</i>	Se encuentra comúnmente en la naturaleza y tienen la capacidad de adaptarse a diferentes ambientes. Estas bacterias se encuentran en el intestino humano y animal, en el agua, y suelo, son bacilos gramnegativos, con capacidad de movimiento gracias a sus flagelos, no forman esporas, son aerobios facultativos, fermentan la glucosa y son oxidasa positivos. Además, estas bacterias son poco exigentes en términos nutricionales y pueden variar genéticamente (Navarra, 2019).
<i>Klebsiella</i>	Es una bacteria Gram negativa, está encapsulada, no tiene movimiento propio, es capaz de fermentar la lactosa y se adapta a ambientes con y sin oxígeno. Esta bacteria se encuentra de manera habitual en la boca, piel, agua y el suelo (Tártara & Gram, 2013).

Flavobacterium

Estas bacterias se hallan comúnmente en ambientes acuáticos como el agua dulce y salada, así como también en plantas procesadoras y alimentos. Además, son una especie comensal en animales acuáticos (Ingenio, 2009).

2.6.2 Producción de ácidos orgánicos

Los suelos agrícolas suelen contener ácidos orgánicos de forma natural. Aunque su función en el suelo aún no ha sido completamente establecida, existen múltiples pruebas que sugieren que impactan en el desarrollo de las plantas. Ciertos ácidos orgánicos tienen la capacidad de aumentar la cantidad de nutrientes insolubles, especialmente el fósforo, para las plantas. Los microorganismos ubicados en la zona cercana a las raíces de las plantas, conocida como la rizosfera, son responsables de la síntesis de estos ácidos de bajo peso molecular. Por lo general, la concentración de estos ácidos en la solución del suelo es baja, normalmente oscilando entre 1 y 50 mg. Sin embargo, ha habido limitada investigación acerca de la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos beneficiosos para el crecimiento de las plantas (Paredes & Espinosa, 2009).

La Tabla 2 muestra diversos tipos de ácidos orgánicos que desempeñan un papel en el procedimiento de solubilización del fósforo. Se ha registrado que el ácido glucónico es uno de los importantes agentes implicados en la solubilización de fósforo, principalmente producido por *Pseudomonas* sp.

Tabla 2. Principales ácidos orgánicos generados por microorganismos que solubilizan el fósforo

Ácidos producidos por microorganismos solubilizadores de fosforo			
Glucónico	Cítrico	Láctico	Acético
2-cetoglucónico	Butírico	Succínico	Glicónico
Oxálico	Malónico	Málico	Fumárico
Adípico		Fórmico	

Fuente: (Beltrán, 2014).

2.7 Cultivo de microorganismos en el laboratorio

El cultivo de microorganismos es el proceso de crecimiento de microorganismos en un medio nutritivo sólido o líquido, implica proporcionarles un ambiente adecuado para que puedan multiplicarse, requieren elementos químicos para su desarrollo. Es fundamental que estos nutrientes estén en una forma que sea accesible para los microorganismos. Asimismo, los microorganismos necesitan energía celular que utilizan para esquematisar macromoléculas y mantener gradientes químicos a través de sus membranas. Es fundamental controlar diversos factores durante su desarrollo, como los nutrientes, pH, temperatura, aireación y concentración de sales (Carroll et al., 2023).

2.8 Bioinsumos

Un bioinsumo es un beneficio que contiene compuestos de microorganismos o plantas, que tienen el contenido de mejorar la calidad y/o salud de los cultivos vegetales sin causar efectos negativos en suelo. En la producción se emplean varias técnicas que nacen del estudio y determinación de las diversas interacciones entre las plantas y su entorno. Estos insumos biológicos pueden ser aplicados en la producción acuática o en bosques destinados a la plantación, con el fin de favorecer positivamente el crecimiento (Filippone, 2018).

2.8.1 Bioinsumos solubilizadores de fósforo

Los bioinsumos solubilizadores de fósforo son productos biológicos que contienen microorganismos capaces de solubilizar el fósforo presente en los suelos, lo que permite que este elemento sea asimilado por las plantas de manera más efectiva. Estos bioinsumos son una alternativa a los fertilizantes químicos tradicionales, ya que reducen la necesidad de aplicar grandes cantidades de fósforo y otros nutrientes a los suelos, lo que a su vez disminuye el impacto ambiental y los costos de producción. Los microorganismos utilizados en los bioinsumos incluyen bacterias, hongos y actinomicetos con la habilidad de asimilar fósforo inorgánico y transformarlos en una forma asimilable por las plantas. Estos bioinsumos se aplican al suelo en forma de solución líquida, polvo o gránulos, y se utilizan en cultivos agrícolas, jardines y viveros. Además de solubilizar el fósforo, producen hormonas de crecimiento vegetal, esto contribuye a mejorar la salud, fertilidad del suelo y aumentar la eficiencia de los cultivos, ya que aumentan la dinámica de los microorganismos en el suelo (Lagler, 2017).

2.9 Técnicas microbiológicas

Existen varias técnicas microbiológicas utilizadas para el estudio y análisis de microorganismos. Algunas de las más comunes son el cultivo microbiano, la tinción de Gram y la microscopía.

2.9.1 El cultivo microbiano

El cultivo microbiano permite que microorganismos se reproduzcan en un ambiente adecuado. Durante la reproducción, los microorganismos generan copias de sí mismos y necesitan nutrientes que deben suministrarse de manera que puedan ser utilizados en su metabolismo. Además, los

microorganismos necesitan energía metabólica para crear moléculas grandes y mantener gradientes químicos. Es importante controlar varios factores durante la reproducción y desarrollo de las bacterias, como: la disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, oxigenación, concentración de sales y la fuerza iónica del entorno (Carroll et al., 2023).

2.9.2 Tinción de Gram

La tinción de gram diferencia a las bacterias en dos grupos. Las bacterias Gram positivas son las bacterias que retienen la tinción de color azul-violeta, y las bacterias Gram negativas las que se decoloran y se tiñen con safranina. Esta diferencia de tinciones se debe a la estructura de las paredes celulares de las bacterias. Las bacterias Gram positivas tienen una pared gruesa compuesta por peptidoglucano y polímeros esto hace que las bacterias resistan la decoloración, por otra parte, las bacterias gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucano mas una doble capa de lipoproteínas que se puede deshacer con la decoloración. La tinción de Gram proporciona información sobre infecciones puede revelar los agentes causales incluso con una toma de muestra no adecuada. También hace posible distinguir entre contaminación de la muestra y una verdadera infección. Actualmente la tinción de Gram sigue siendo un método eficaz e importante en el laboratorio, además de que es rápido y económico, por lo que se debe estandarizar para evitar errores técnicos o de interpretación (Rodríguez & Arenas, 2018).

2.9.3 La microscopía

La microscopía es una técnica científica que se utiliza para observar objetos o estructuras que son demasiado pequeños para ser vistos a simple vista. Consiste en el uso de un instrumento llamado microscopio, que utiliza lentes y técnicas de iluminación especiales para aumentar significativamente el tamaño de los objetos o detalles que se observan (Montalvo, 2020).

2.10 Medios de cultivo

Son una mezcla de sustancias que se utilizan en microbiología para el crecimiento y mantenimiento de microorganismos. Estos medios contienen los nutrientes necesarios para que las células microbianas puedan crecer, dividirse y formar colonias. Existen diferentes tipos de medios de cultivo según su composición química, física y biológica, así como según el propósito para el cual se utilizan. Algunos medios de cultivo son específicos para el desarrollo de ciertos tipos de microorganismos, mientras que otros son más generales y permiten el desarrollo de una diversidad de bacterias, hongos y otros microorganismos (Gómez et al., 2019).

Pueden ser sólidos o líquidos, y pueden contener diferentes tipos de nutrientes, como carbohidratos, proteínas, vitaminas, minerales y otros compuestos orgánicos e inorgánicos. Además, pueden incluir agentes selectivos y diferenciadores que permiten la diferenciación de ciertos tipos de microorganismos de acuerdo a sus propiedades bioquímicas y metabólicas (Madigan et al., 2015).

**2.10.1 Medio de cultivo para los microorganismos solubilizadores de fósforo o NBRIP
(National Botanical Research Institute's phosphate growth medium).**

El NBRIP es un medio empleado para el crecimiento de bacterias que solubilizan fósforo. Contiene fosfato de calcio como suministro de fósforo y se usa para evaluar la capacidad de las cepas bacterianas para disolver fósforo. Se emplea para medir el halo amarillo que se forma alrededor de la colonia bacteriana después de 24, 48 y 72 horas de incubación a una temperatura de 30 °C (Nieto & Szpinak, 2017).

CAPÍTULO II

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Reactivación de las cepas bacterianas

Se reactivaron 67 cepas bacterianas (Anexo 1) que forman parte de la Micoteca para la conservación de la Biodiversidad Ruth Moore del CIITT. Para su reactivación, se empleó el medio de cultivo Agar Nutritivo y se preparo de la siguiente manera:

- Iniciamos la preparación del medio de cultivo de agar nutritivo con la adición de 23 gr de agar a un vaso de precipitación que contiene un total de 1000 ml de agua destilada. Posteriormente agitamos la mezcla sobre un mechero hasta llevarla al punto de ebullición, asegurándonos que el polvo se disuelva por completo.
- Una vez que la disolución esta completa trasferimos la mezcla a un recipiente adecuado y lo sometemos a un proceso de autoclave durante 15 minutos para la esterilización del medio de cultivo. Después de este periodo, vertemos el medio en placas Petri, sellamos herméticamente con parafilm y permitimos que el agar se solidifique, esto nos proporciona que el medio esta listo para reactivar las cepas bacterianas.

Posteriormente, el medio de cultivo fue al auto clave durante 15 minutos a una temperatura de 121°C. Finalmente, se dispensó 20 ml en cajas Petri para su uso (MacFaddin, 1985). Para la siembra se empleó el método de estriado por agotamiento, con el objetivo de obtener colonias puras. Estas fueron incubadas a 30°C de 24 a 48 horas dependiendo el crecimiento de la bacteria.

En la Figura 3, se aprecia el proceso de reactivación de las cepas bacterianas en el laboratorio, llevado a cabo con rigurosas medidas de asepsia.



Figura 3. Reactivación de las cepas bacterianas en el laboratorio mediante estrictas medidas de asepsia

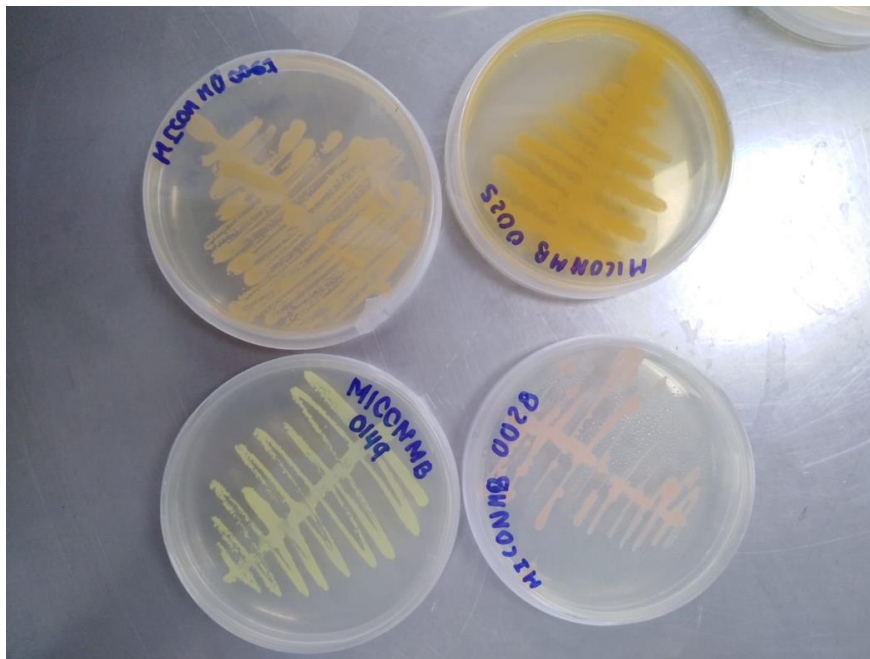


Figura 4. Cepas bacterianas reactivadas en medio de cultivo de Agar específico mediante la técnica de estriado por agotamiento

3.2 Elaboración del Medio de Cultivo NBRIP

Se elaboró el medio de cultivo NBRIP (Medio de fosfatos del National Botanic Research Institute) que favorece el crecimiento de cepas bacterianas para la solubilización de fósforo. En la tabla 3 se detallan los componentes para un litro de medio de cultivo.

Tabla 3 Reactivos y cantidades para la preparación del medio de cultivo específico NBRIP.

Reactivos	Cantidad
Glucosa	10 gr
Fosfato de calcio - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5 gr
Cloruro de magnesio - $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5 gr
Sulfato de magnesio - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,025 gr
Cloruro de potasio - KCl	0,2 gr
Sulfato de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,1 gr
Azul de bromotimol	0,5 gr

El azul de bromotimol se utilizó como marcador de viraje de color. Cada uno de los reactivos fue agregado y disuelto en el orden mencionado y posteriormente se agregaron 20gr de agar bacteriológico en 2 litros de agua destilada, se agitó hasta obtener un color turquesa, se transfirió a frascos y se procedió a la esterilización colocando estos en el autoclave a 121°C por 15 minutos.

En la Figura 4, se puede apreciar la preparación del medio de cultivo NBRIP, previo al proceso de esterilización.

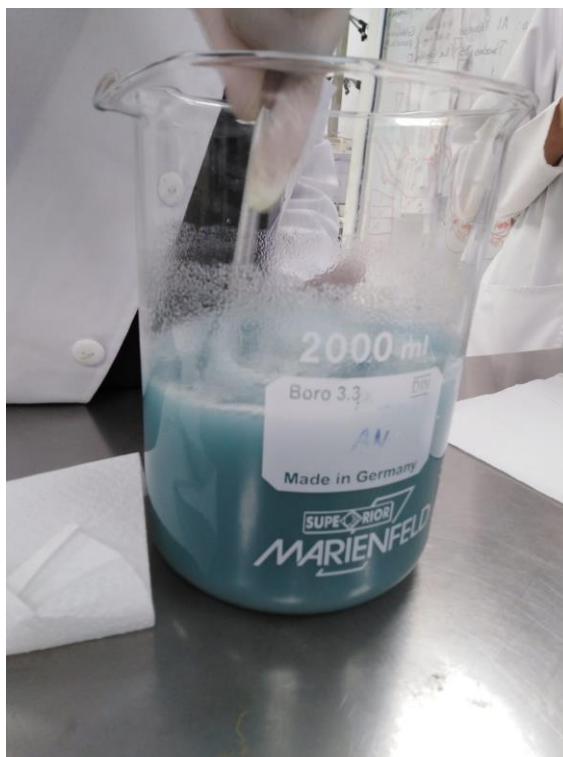


Figura 5. Medio de cultivo NBRIP antes del ciclo de esterilización

Después del ciclo de esterilización, es importante destacar que el medio de cultivo cambia de color debido al aumento de temperatura, transformándose en un tono verde esmeralda. Luego, este medio se transfirió a cajas Petri y se sellaron herméticamente con parafilm. Después de un período de 24 horas en refrigeración, el medio recuperó su color azulado original.

La Figura 5 muestra claramente este cambio de color en el medio de cultivo después del proceso de esterilización, que es necesario para que el medio adquiera su consistencia sólida.



Figura 6. Medio de cultivo NBRIP después del ciclo de esterilización

3.3 Siembra de las bacterias en el medio NBRIP (Medio de fosfatos del National Botanic Research Institute)

Tras la activación de las bacterias, se llevó a cabo la siembra utilizando la técnica de punción en la zona central de la caja que contenía el medio NBRIP. Una vez realizada la siembra, se procedió al sellado hermético de las cajas utilizando parafilm. Las cajas fueron posteriormente colocadas en una incubadora a una temperatura constante de 28°C, manteniéndolas en este ambiente durante un periodo de 15 días.

Transcurrido este tiempo, se procedió a medir el halo para evaluar la habilidad de las bacterias que disuelven el fósforo. Se consideró como bacterias solubilizadoras aquellas que presentaron un halo de de al menos 3mm como se puede observar en la figura 3. Esta medida permitió establecer el grado de actividad y eficacia de estas bacterias en la solubilización, que se registraron en una base de datos con cada uno de sus códigos.

En la Figura 7, se aprecia claramente el crecimiento del halo de la bacteria *Acinetobacter iwoffii*, el cual alcanza un diámetro de 20 mm. Además, se observa un cambio en el color del medio de cultivo, resultado de la generación de ácidos orgánicos. Estos ácidos desempeñan un papel crucial al convertir el fósforo inorgánico en una forma orgánica asimilable por las plantas, facilitando así su absorción y crecimiento.

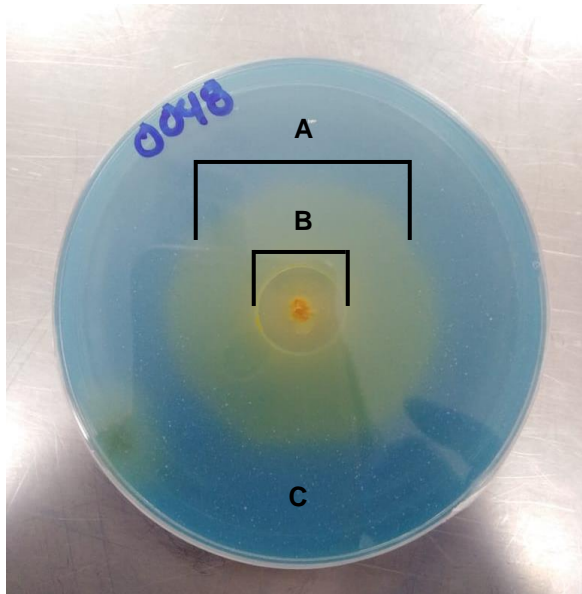


Figura 7. Crecimiento de la bacteria *Acinetobacter iwoffii*
 A= Halo de solubilización 20 mm
 B= Bacteria en crecimiento
 C= Medio de cultivo NBRIP

3.4 Tinción de Gram

Se llevó a cabo la tinción de Gram en las 67 cepas bacterianas con el propósito de identificar y clasificar bacterias como grampositivas o gramnegativas.

El procedimiento se realizó siguiendo las etapas que se detallan a continuación: en primer lugar, se agregó una gota de suero fisiológico en un portaobjetos. Se utilizó un asa de siembra para tomar una colonia bacteriana y se extendió uniformemente sobre el portaobjetos. Después, se permitió que la muestra se seque a temperatura ambiente, para que los colorantes se fijen en las bacterias y revelar su característica coloración.

En la tabla 4 se presenta el orden específico y los tiempos determinados para cada paso durante la realización de la tinción de Gram.

Tabla 4 Orden y tiempo de colorantes para la tinción de Gram

Colorantes	Tiempo
Cristal violeta	1 minuto
Yodo	1 minuto
Alcohol cetona	15 segundos
Safranina	1 minuto

Tras llevar a cabo la tinción de Gram en cada una de las 67 cepas bacterianas, se procedió a examinar cuidadosamente cada muestra empleando un microscopio óptico, para verificar su forma y color. Los resultados obtenidos fueron meticulosamente guardados en una base de datos, asignando a cada cepa su correspondiente código de identificación.

3.5 Descripción morfológica de las bacterias (descripción taxonómica)

Con el objetivo de establecer el morfotipo de cada una de las cepas bacterianas, se realizó una descripción morfológica que abarcó diversas características, estas son:

1. Superficie: Se evaluó la superficie bacteriana para determinar si es plana, plana convexa, acuminada, umbilicada o papilada.
2. Forma: Se analizó la forma de las bacterias, teniendo en cuenta si son puntiformes, irregulares, circulares, rizoides, filamentosas o fusiformes (cocos, bacilos, espirilos).
3. Borde: Se examinó el borde bacteriano para determinar si es redondeado, espiculado, ondulado, filamentosos, lobulado o rizoides.
4. Color: Se analizó el color de las bacterias, considerando opciones como blanco, rosado, amarillo, verde, crema y naranja.
5. Tonalidad: Se evaluó la tonalidad de las bacterias, teniendo en cuenta si es brillante, opaca o semitransparente.
6. Tamaño: Se determinó el tamaño de las cepas bacterianas, clasificándolas como grandes, medianas o pequeñas.

Mediante esta detallada descripción morfológica, fue posible establecer el morfotipo de cada una de las cepas bacterianas mediante una tabla establecida por el laboratorio de microbiología del CIITT.

3.6 Revisión de requisitos de cepas bacterianas como base para la elaboración de un bioinsumo

A través de una revisión bibliográfica, se realizó una evaluación de las cepas bacterianas identificadas como solubilizadoras de fosfato para determinar si cumplen con los criterios fundamentales. Estos criterios incluyen:

1. Capacidad de solubilización de fósforo: Las bacterias deben demostrar su habilidad para solubilizar fósforo insoluble, mediante la producción de ácidos orgánicos y/o enzimas fosfatasa que liberan fósforo en formas asimilables para las plantas (Rincón & Bobadilla, 2008).
2. Eficiencia en la solubilización: Las bacterias solubilizadoras de fósforo deben ser eficientes en su capacidad para liberar y mantener el fósforo de manera disponible para las plantas. Se evalúa su capacidad de solubilizar una cantidad significativa de fósforo mediante ensayos de laboratorio o pruebas en condiciones de campo.

3. Tolerancia a las condiciones ambientales: Estas bacterias deben ser resistentes y capaces de sobrevivir en diferentes condiciones ambientales, incluyendo altas o bajas temperaturas, variabilidad en el pH del suelo y la presencia de otros elementos o sustancias que puedan afectar su actividad (Restrepo et al., 2015).
4. Interacciones beneficiosas con las plantas: Las bacterias solubilizadoras de fósforo deben establecer una relación simbiótica o mutualista con las plantas. Su presencia debe estimular el desarrollo de las plantas, mejorando la absorción de fósforo y su nutrición, facilitando la absorción de nutrientes.
5. Seguridad y ausencia de patogenicidad: Es fundamental que estas bacterias sean seguras para las plantas, los animales y el medio ambiente. Deben ser no patógenas y no causar daño a las plantas u otros organismos. Se deben realizar pruebas de seguridad y evaluaciones de riesgos antes de utilizarlas como bioinsumos (Fernández et al., 2005).

Estos criterios son esenciales para seleccionar bacterias solubilizadoras de fósforo adecuadas para su uso en la producción de bioinsumos, como fertilizantes biológicos o promotores del crecimiento vegetal. La elección de bacterias con estas características garantiza su capacidad para mejorar la disponibilidad de fósforo y promover un desarrollo saludable de las plantas.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Descripción morfológica de las cepas bacterianas

Las cepas bacterianas reactivadas en la Micoteca para la conservación de la Biodiversidad Ruth Moore del CIITT exhiben una diversidad morfológica notable (Anexo 2). Cada cepa presenta una superficie, forma, color, borde, tonalidad y tamaño únicos, determinados por su macro morfología. Este estudio contribuye al conocimiento actual sobre las propiedades visuales de las cepas bacterianas y sienta las bases para futuras investigaciones. Comprender la relación entre la tonalidad, forma, color, etc. y otras características de las cepas bacterianas puede tener implicaciones significativas estas características se definen a continuación:

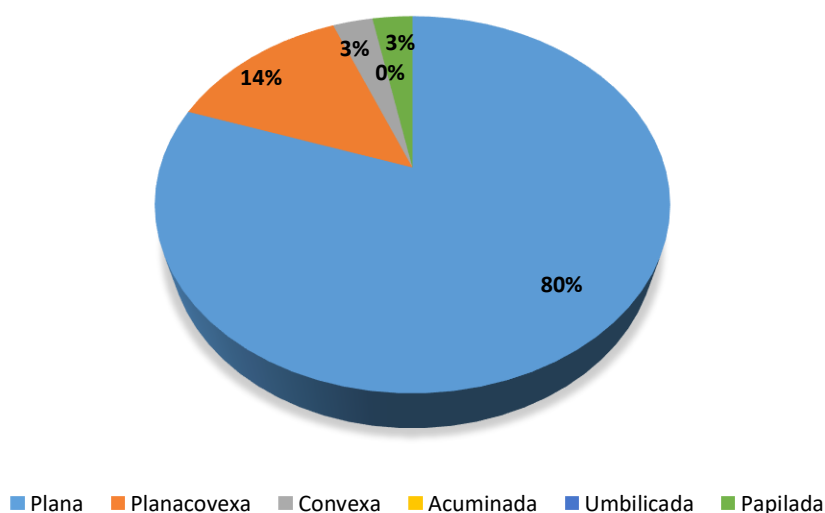


Figura 8. Caracterización de la superficie en porcentajes de las Cepas Bacterianas

En la figura 8, se visualiza que las cepas bacterianas presentan una superficie plana, representando un 80% del total. El 14% de las cepas tienen una forma plana convexe, mientras que un 3% muestra una forma convexa. No se encontraron cepas con una superficie acuminada-umbilicada, y un 3% de las cepas presentan una superficie papilada.

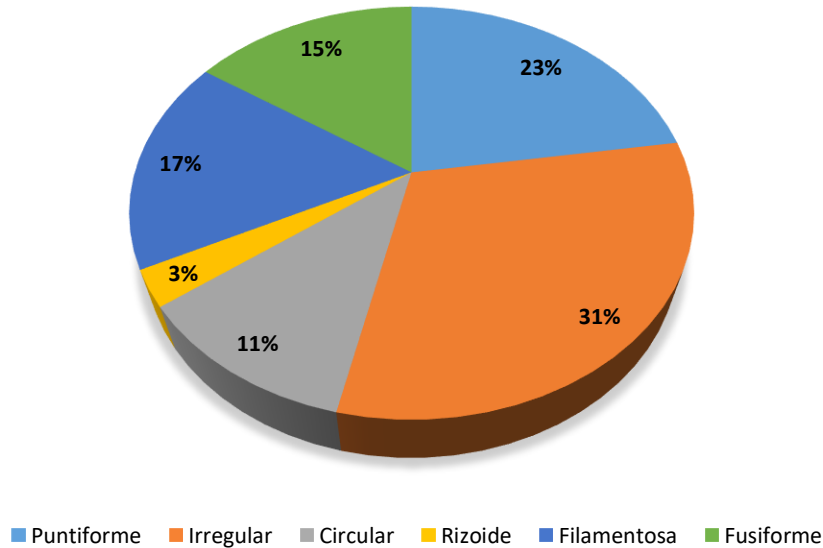


Figura 9. Caracterización de la forma de las cepas bacterianas en porcentaje

En la figura 9 se visualiza la distribución de las formas de las cepas bacterianas. La forma irregular es la más común, representando el 31% del total. La forma puntiforme representa el 23%, la forma filamentosa el 17%, la forma fusiforme el 15%, la forma circular el 11%, y la forma rizoide el 3%.

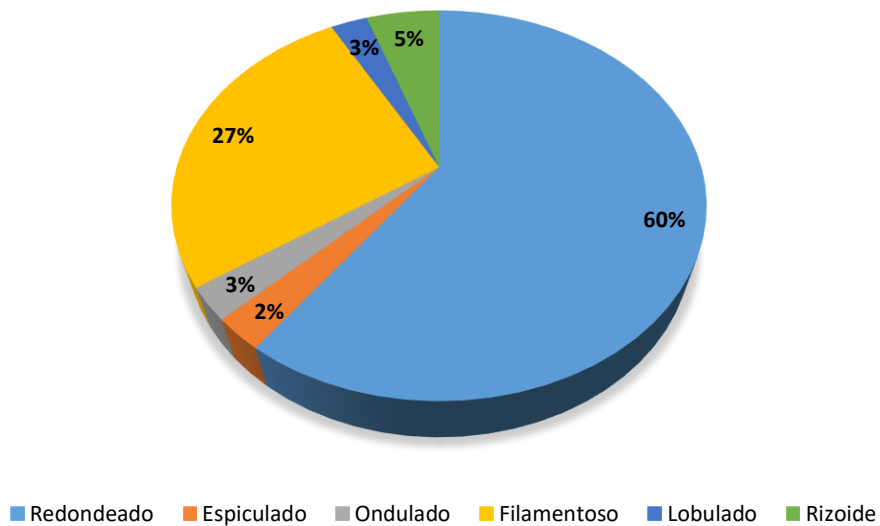


Figura 10. Caracterización de los bordes de las cepas bacterianas en porcentaje

En la figura 10, se visualiza la distribución de los bordes de las cepas bacterianas. La mayoría de los bordes son redondeados, representando el 60% del total. Los bordes filamentosos representan el 27%, los bordes rizoides el 5%, los bordes ondulados y filamentosos el 3%, y los bordes espiculado el 2%.

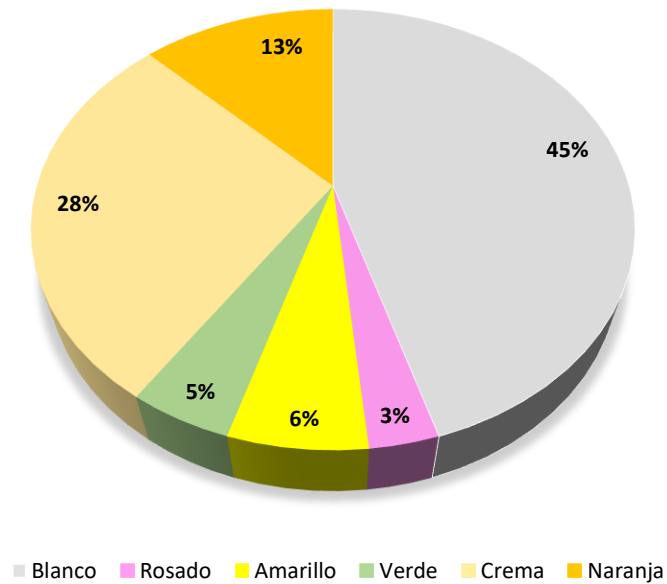


Figura 11. Identificación de los colores de las cepas bacterianas en porcentaje

En la figura 11, se observa la distribución de colores en las cepas bacterianas analizadas. El color predominante es el blanco, representando un 45% del total. Le sigue el color crema con un 28%, mientras que el color naranja representa un 13% de las cepas bacterianas. Un 6% de las cepas presenta un color amarillo, mientras que el color verde se encuentra en un 5% de las cepas bacterianas. Por último, un 3% de las cepas bacterianas muestra un color rosado.

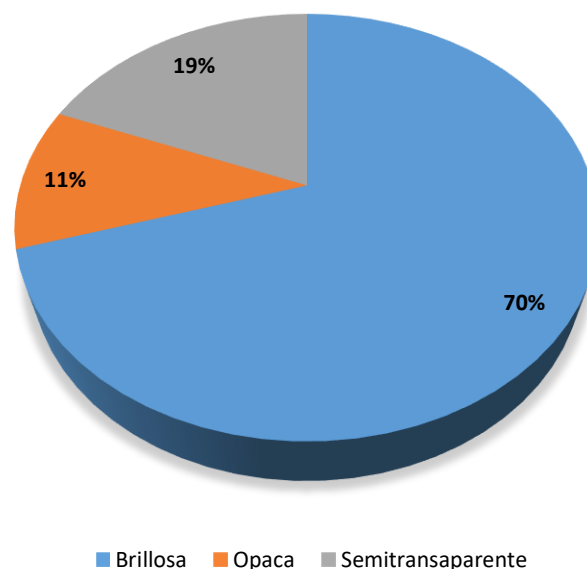


Figura 12. Especificación de la tonalidad de las cepas bacterianas en porcentaje

En la figura 11, presenta los resultados obtenidos al evaluar la tonalidad de las cepas bacterianas. Se observa que el 70% del total de las cepas bacterianas exhiben una tonalidad brillante.

Un 19% de las cepas bacterianas presenta una tonalidad semitransparente, mientras que un 11% presenta una tonalidad opaca.

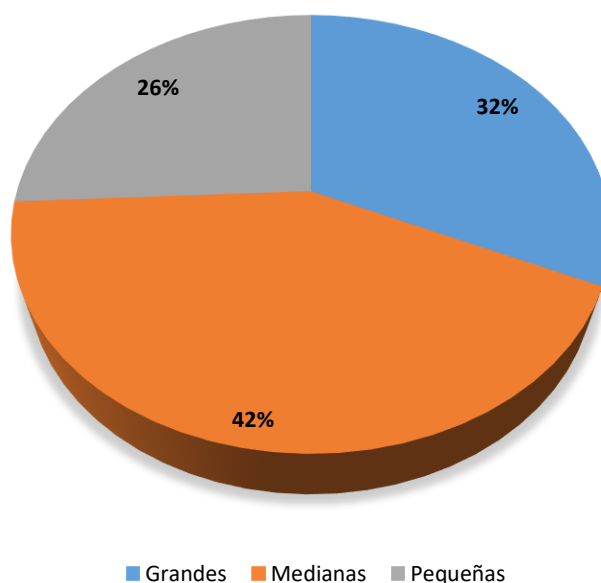


Figura 13. Caracterización del tamaño de las cepas bacterianas en porcentaje

En la figura 13, se presentan los resultados obtenidos al evaluar el tamaño de las cepas bacterianas. Se observa que un 42% del total de las cepas bacterianas tienen un tamaño mediano. Un 32% de las cepas bacterianas presentan un tamaño grande, mientras que un 26% se clasifican como pequeñas.

4.1.1 Descripción micro morfológica de las cepas bacterianas

El Anexo 3 contiene las bacterias clasificadas como gram negativas, mientras que en el Anexo 4 se pueden observar las bacterias gram positivas. Esto cobra relevancia en virtud de las observaciones de Uribe (2020), que resaltan la importancia de comprender tanto las características a nivel macroscópico como microscópico bajo análisis en diversos medios de cultivo o sustratos empleados. Resulta fundamental considerar las particularidades específicas de los diversos tipos de microorganismos en consideración. La identificación de la micro morfolología se realizó de acuerdo con la metodología delineada por Breed et al. (1957).

En este estudio, se logró aislar un total de 67 bacterias, de las cuales 39 fueron identificadas como gram positivas y 28 como gram negativas. En la figura 9, demuestra el análisis porcentual de las bacterias gram positivas, revelando que el 62% corresponden a bacilos, mientras que el 38% restante son cocos.

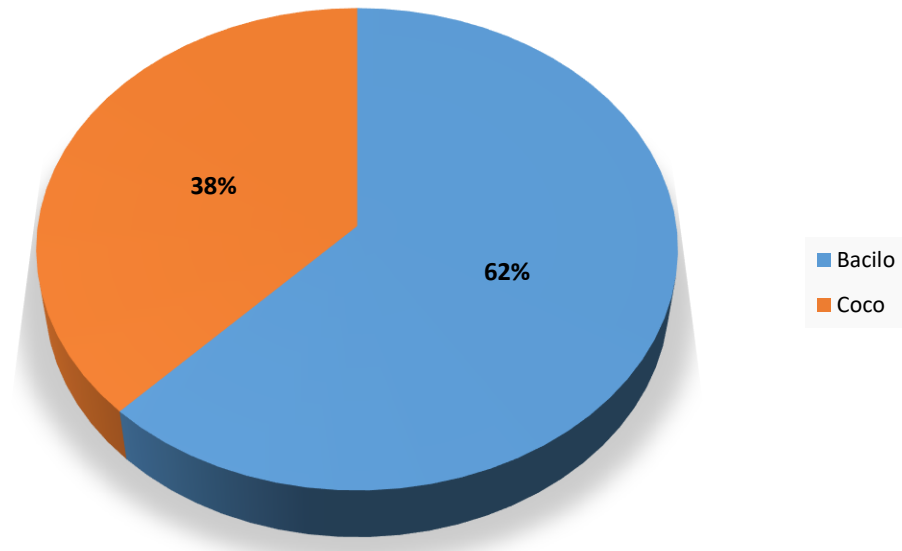


Figura 14. Representación de las Bacterias Gran Positivas en porcentaje

La figura 14 presenta un conjunto de 39 bacterias gram positivas, y es importante destacar que un total de 62% se clasifica en bacilos y un 38% se clasifica en cocos.

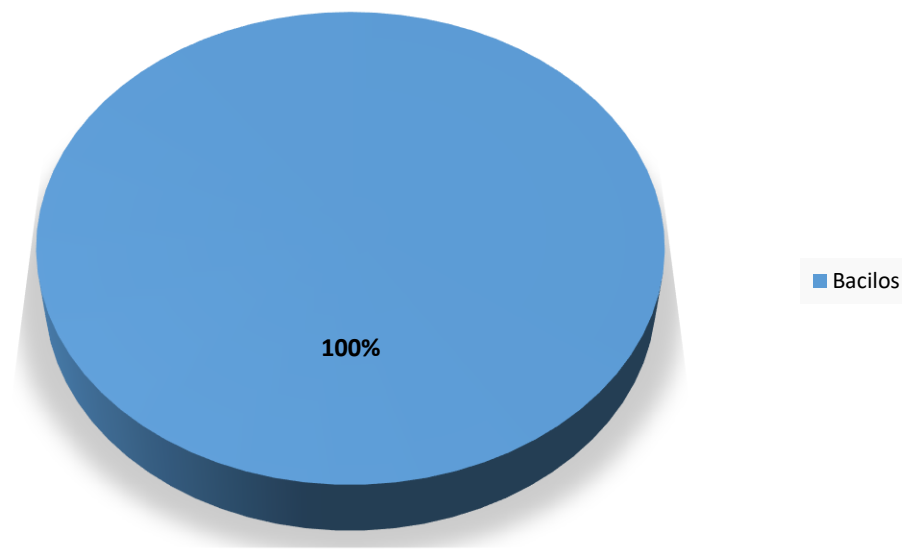


Figura 15. Representación de las bacterias Gram negativas en porcentaje

La figura 15 presenta un conjunto de 28 bacterias gram negativas, y es importante destacar que todas ellas se clasifican como bacilos.

4.2 Bacterias solubilizadoras de fósforo

De acuerdo con los resultados, se constató que, de las 67 cepas bacterianas reactivadas, 40 de ellas exhibieron la habilidad de solubilizar fósforo, lo cual se detalla en el anexo 5. En figura 12, se presentan los diámetros de los halos de solubilización después de un período de incubación de 15 días, junto con la eficiencia de solubilización correspondiente a cada una de las cepas.

Según Rodríguez & Fraga (1999), Los microorganismos que tienen la capacidad de crear una zona halo o clara se consideran potenciales solubilizadores de fósforo. Hay 13 géneros de bacterias que pueden solubilizar fosfato, incluyendo *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Erwinia*, pero las bacterias más eficaces como solubilizadoras son *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Rhizobium* (Paredes & Espinosa, 2009). En el contexto de esta investigación, se han identificado las especies bacterianas capaces de solubilizar el fósforo, incluyendo 1 especie de *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Buttiauxela*, *Chryseobacterium*, *Citrobacter*, *Comamonas*, *Kluyvera*, *Lactobacillus*, *Lelliota*, *Morganela*, *Pantoea*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Sphingobacterium*, *Staphylococcus*, *Yersenia*, 2 especies de *Aeromonas*, 4 especies de *Bacillus*, 3 especies de *Klebsiella*, 11 especies de *Pseudomonas* y 3 especies de *Serratia*.

En un principio, se aislaron en condiciones de laboratorio 67 microorganismos, y se evaluó su capacidad para solubilizar fósforo, lo cual se evidenció mediante la formación de un halo de crecimiento y un cambio de color de azul a amarillo en el medio de cultivo NBRIP. En una investigación previa realizada por Restrepo et al. (2015), se empleó el mismo medio de cultivo para la selección de microorganismos solubilizadores de fósforo en las raíces de plantas de vainilla, y se propuso que las colonias que mostraban un cambio de color de azul a amarillo en su entorno lo hacían debido a la producción de ácidos orgánicos.

Según un estudio que realizó Gupta et al., (1994) desarrolló un procedimiento mejorado usando un medio que contenía azul de bromofenol, formando zonas circulares de color amarillo alrededor de las colonias en respuesta a la caída del pH producida por la liberación de ácidos orgánicos, que son los encargados de disolver el fósforo, revelaron que a medida que la concentración del tinte aumentaba, la claridad y visibilidad del halo de color amarillo mejoraba, en la presente investigación se utilizó 0,5gr de azul de bromotimol en donde también se pudo observar el viraje de color verde claro y la formación del halo a un color amarillo.

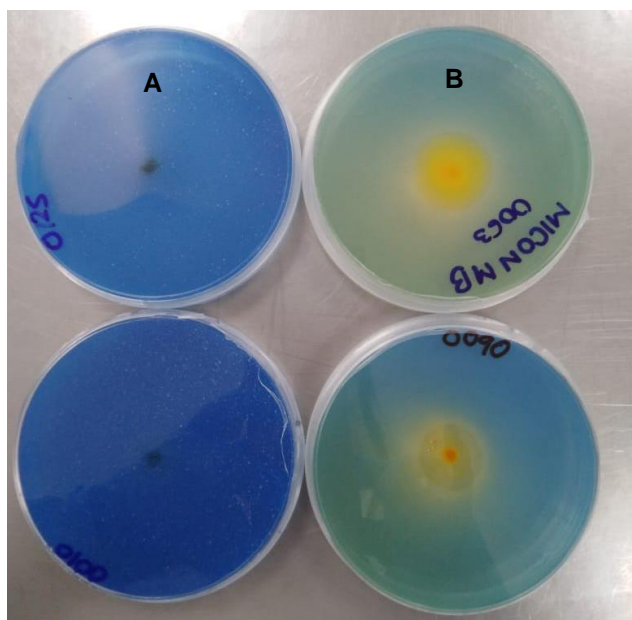


Figura 16. A) Bacteria que no solubiliza el fósforo, no existe viraje de color, B) Bacteria solubilizadora de fósforo, existe viraje de color y halo de color amarillo

El halo que forman es el resultado de la asimilación de fosfatos que son insolubles, y esto se debe en gran medida a la producción de ácidos orgánicos. La habilidad para solubilizar fósforo se evaluó en medios que contenían fosfato di cálcico (CaHPO_4), observando la formación de zonas claras o halos donde los cristales de fosfato se disolvían alrededor de las colonias de los microorganismos que tenían esta habilidad. En el curso de esta investigación, se encontró que 40 de las 67 cepas bacterianas formaron un halo transparente, lo que indica la mineralización del fosfato orgánico gracias a la enzima fosfatasa que algunos microorganismos secretan (Gupta et al., 1994; Pérez et al., 2012).

El tamaño de la región transparente que rodea a las colonias bacterianas en el medio de cultivo, indica la habilidad de las bacterias para solubilizar los fósforo y la eficiencia con la que lo hacen (Paredes & Espinosa, 2009). Según Beltrán, (2014) un halo más grande indica una mayor actividad de solubilización de fósforo. En el presente estudio, se observó que entre las 40 bacterias solubilizadoras de fósforo evaluadas, la bacteria *Acinetobacter iwoffii* destacó al formar un halo de 20 mm. Esto se atribuye a su capacidad para producir ácido cítrico, glucónico y ácido málico, los cuales tienen la propiedad de disolver los compuestos de fósforo insolubles.

La figura 17 representa los diámetros de los halos generados por bacterias con la capacidad de solubilizar fósforo, entre las 40 bacterias *Acinetobacter iwoffii* y *Providencia alcalifaciens* destacan por haber generado los halos mas grandes. Cada barra en el gráfico corresponde al diámetro del halo producido por una cepa bacteriana específica, el tamaño del halo es directamente proporcional a la capacidad de solubilización de cada bacteria: a mayor tamaño de la barra mayor es la eficacia de solubilización.

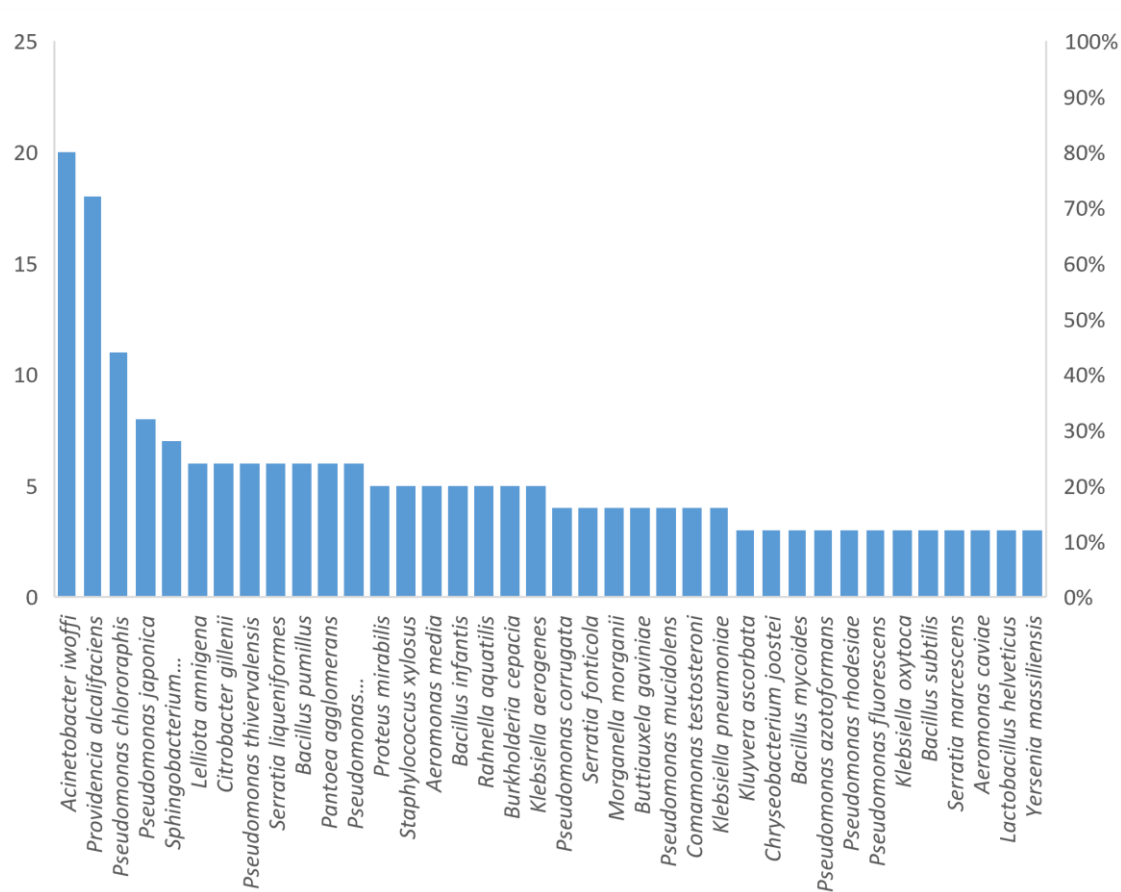


Figura 17. Representación gráfica del tamaño diámetro del halo de solubilización ubicados de mayor a menor con su respectivo nombre de la cepa bacteriana.

4.3 Requisitos para procesos de biorremediación

La mayoría de los productos de bioinsumos se elaboran utilizando bacterias como *Bacillus*, *Burkholderia* y *Pseudomonas* (Starobinsky et al., 2021). Se ha informado sobre el uso de las *Pseudomonas* en el desarrollo de un biofertilizante y biopesticida, logrando mejorar el crecimiento vegetal en un 40% sin afectar la comunidad microbiana en la rizosfera de la planta.

De la lista de las bacterias proporcionada, existen varios requisitos de manera general según varios autores:

Las bacterias que fomentan el desarrollo de las plantas son notables por los efectos positivos que tienen tanto en las plantas como en los ecosistemas. Estas bacterias obtienen beneficios de diversas maneras, como optimizar la habilidad de las plantas para absorber agua y nutrientes, producir fitohormonas y combatir biológicamente a los patógenos. Esto se logra principalmente mediante la producción de sideróforos, la inhibición de microorganismos nocivos y la resistencia en los cultivos frente a una amplia gama de plagas y enfermedades. Además, reducen la necesidad de aplicar fertilizantes químicos al aprovechar las reservas de fósforo presentes en el suelo (Morocho & Leiva-Mora, 2019; Rodríguez, 2010)

Según García et al., (2015) dice que las bacterias de los géneros *Chryseobacterium* y *Aeromonas* desarrollan mecanismos que aumentan la persistencia de las plantas a condiciones de estrés abiótico, como la sequía y la salinidad. Además, mejoran la capacidad de supervivencia de las plantas en ambientes contaminados por metales pesados. Estas bacterias también realizan diversas actividades beneficiosas, como la producción de exopolisacáridos, actividad enzimática antioxidante, solubilización de fósforo, generación de ácidos orgánicos, producción de sideróforos, síntesis de polímeros extracelulares y la reducción en la absorción de metales pesados por parte de las plantas.

Según Baquero et al., (2007) los géneros de bacterias *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Rahnella*, *Burkholderia* solubilizan y mineralizan el fósforo, mineralizan fósforo orgánico y disuelven fósforo que es insoluble que posteriormente es liberado y puede ser absorbido con facilidad por las plantas, sintetizan moléculas que imitan hormonas vegetales, modulan hormonas vegetales, ajustan hormonas vegetales produciendo actividad de la enzima ACC (1-aminociclopropano1-carboxilato) desaminasa, lo que permite reducir los niveles de etileno y fomentar el desarrollo de la planta.

Estrategias para promover el crecimiento de las plantas:

1. Producción de sideróforos: Generación de compuestos capaces de captar hierro con alta afinidad, lo que incrementa la accesibilidad de hierro y disminuye el desarrollo de patógenos.
2. Producción de enzimas hidrolíticas y antibióticos: Fabricación de enzimas que descomponen sustancias y antibióticos que previenen o combaten el crecimiento de organismos patógenos.
3. Producción de biopelículas: Formación de capas de biopelículas en las raíces, lo cual puede mitigar los efectos negativos de la alta salinidad y la sequía en el tejido radicular.

Según Bonilla Buitrago et al, (2021); Pérez Lavalle et al, (2017), el género *Bacillus* tiene la capacidad de producir inclusiones cristalinas o delta endotoxinas con propiedades insecticidas, además de solubilizar el fósforo y codificar proteínas para combatir ciertas especies de insectos. También estimula el crecimiento de las plantas mediante varios mecanismos, es seguro de aplicar, tiene un crecimiento rápido y se puede producir fácilmente a gran escala.

Según Rodríguez, (2010) los géneros de bacterias *Staphylococcus* y *Lactobacillus* producen cantidades significativas de ácido láctico para la descomposición de carbohidratos, lo que contribuye a la solubilización del fósforo. Además, estos microorganismos beneficiosos secretan sustancias como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales y antioxidantes cuando interactúan con la materia orgánica. Cuando se interactúan en el entorno natural, su efecto positivo se multiplica de manera sinérgica, inhibiendo la proliferación de microorganismos dañinos.

Según Pérez Lavalle et al, (2017) Los géneros de bacterias *Klebsiella*, *Proteus* y *Citrobacter* tienen la capacidad de fijar el fósforo mediante la interacción con óxidos e hidróxidos de aluminio y

hierro. Además, solubilizan el fósforo a través de la elaboración de ácidos orgánicos como inorgánicos, lo que convierte el fósforo insoluble en una forma disponible para las plantas.

De la lista de bacterias asignadas inicialmente, se ha reportado que las siguientes bacterias son solubilizadoras de fosfato:

Tabla 5. Lista de bacterias reportadas como solubilizadoras de fósforo de acuerdo a una revisión bibliográfica

Bacteria	Información
<i>Bacillus infantis</i>	De acuerdo a los estudios de Patiño-torres (2014) y Corrales et al. (2014), la bacteria <i>Bacillus infantis</i> desempeña un papel crucial como solubilizadora de fósforo. Diversas investigaciones han corroborado a esta bacteria como valiosa para el estímulo del crecimiento vegetal. Esta capacidad se debe a las enzimas que secretan ya su capacidad para producir ácido indolacético, una hormona vegetal que fomenta el desarrollo de las plantas.
<i>Bacillus mycoides</i>	En la investigación de Constanza et al., (2014) se llevó a cabo la modificación de la asimilación del fósforo mediante la introducción de ADN recombinante en microorganismos que originalmente carecían de esta capacidad. Durante el estudio, se identificó la información genética necesaria en la bacteria <i>Bacillus mycoides</i> , y se estableció una relación entre esta función genética y la capacidad de la bacteria para secretar ácidos orgánicos, lo que a su vez la convierte en solubilizadora de fósforo.
<i>Bacillus pumillus</i>	En la investigación de (Hernandez et al., 2013) la bacteria es utilizada como inoculante en la agricultura para mejorar y aumentar la disponibilidad del fósforo para las plantas.
<i>Bacillus subtilis</i>	Según la investigación de (Ratón et al., 2005), esta bacteria es capaz de mineralizar el fósforo partiendo de sustancias orgánicas e inorgánicas. Un ejemplo es el abono orgánico conocido como fosfobacterina, que comercialmente ha demostrado mineralizar más del 50% del fósforo. Estas cualidades hacen que sea un candidato prometedor para la formulación de biopreparados utilizados en la agricultura como bioplaguicidas y biofertilizantes.
<i>Pantoea agglomerans</i>	En el estudio realizado por (Prasad et al., 2022), esta bacteria tiene una capacidad de solubilización del fósforo tricálcico [Ca ₃ (PO ₄) ₂] presente en el medio Fosfato del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP). Estas bacterias logran liberar fosfato soluble y, además,

	muestran una capacidad de solubilización del fósforo de aluminio y también favorecen el desarrollo de las plantas.
<i>Pseudomonas koreensis</i>	En la investigación de (Osorio, 2014), tienen un potencial aplicativo como biofertilizantes, destacó especialmente la bacteria <i>Pseudomonas koreensis</i> como uno de los solubilizadores más efectivos de fósforo inorgánico.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Posee una habilidad destacada para solubilizar el fósforo inorgánico, se debe a que las bacterias generan enzimas, como las fosfatasas, que permiten la nutrición de los microorganismos. La solubilización del fósforo inorgánico es llevada a cabo por estas bacterias mediante la producción de ácidos orgánicos, entre los cuales se incluye el ácido glucónico (Alemu, 2013; González, 2008).
<i>Morganella morganii</i>	Según Restrepo et al. (2015), en su investigación menciona que estas bacterias presentan la capacidad de codificar fosfatasas ácidas. Este aspecto adquiere relevancia en los procesos de descomposición de fósforo inorgánico, permitiendo una mayor adquisición de fósforo por las plantas.
<i>Rahnella aquatilis</i>	Según la investigación de gran capacidad para solubilizar hidroxapatita y fosfato di cálcico (Jordan et al., 1997).

Dentro del conjunto de bacterias solubilizadoras de fósforo, se identifican las siguientes que han sido catalogadas como patógenas:

Tabla 6. Lista de bacterias patógenas de acuerdo a una revisión bibliográfica

Bacterias	Información
<i>Acinetobacter iwoffii</i>	Según Seifert et al. (1993), se ha observado que en pacientes inmunocompetentes, se desencadenan infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con el catéter.
<i>Aeromonas caviae</i>	En la investigación Song et al. (2023) dice que es un patógeno oportunista en pacientes inmunocomprometido, especialmente aquellos con enfermedades hepato biliares provocando diarrea, fiebre, calambres y náuseas.
<i>Aeromonas media</i>	Este microorganismo, identificado tanto en humanos como en animales, principalmente en entornos acuáticos, provoca una variedad de síntomas como diarrea, fiebre, infecciones cutáneas y vómitos (Talagrand-Reboul et al., 2017).
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Wesevich et al. (2020), dice que es un patógeno nosocomial, lo cual implica su capacidad para originar infecciones en contextos médicos. Está relacionado con infecciones oportunistas que abarcan desde problemas en el tracto urinario, neumonía y sepsis, hasta afectaciones en tejidos blandos y sitios quirúrgicos.
<i>Klebsiella oxytoca</i>	En la investigación de Holland. (2017), esta bacteria provoca infecciones de alta gravedad, especialmente en entornos hospitalarios como centros médicos y unidades de cuidados intensivos. Estas infecciones se manifiestan con síntomas que se asemejan a los de la neumonía.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Esta bacteria patógena produce fiebre, escalofríos, tos, producción de mucosidad de tonalidad amarilla o sanguinolenta, así como dificultades respiratorias y molestias en el área torácica (DerSarkissian, 2022).
<i>Proteus mirabilis</i>	Esta ampliamente distribuido en el suelo y en los cuerpos de agua, tiene la capacidad de generar diversas infecciones en seres humanos, abarcando desde infecciones del tracto urinario hasta infecciones en heridas (Jacoby et al., 2002).

<i>Providencia alcalifaciens</i>	Se ha asociado con la causa de infecciones diarreicas en seres humanos (Fisher, 2009).
<i>Serratia fonticola</i>	Se han registrado casos de infecciones en seres humanos que abarcan endocarditis, infecciones cutáneas en pie diabético, infecciones del tracto biliar, complicaciones infecciosas en tumores malignos de la parótida e infecciones del tracto urinario (Sergounioti et al., 2023).
<i>Serratia marcescens</i>	De manera natural, se localiza en el suelo y en el agua, y a temperatura ambiente genera un pigmento de tono rojizo. Se clasifica como un patógeno oportunista, lo que conlleva su mayor impacto en individuos con sistemas inmunológicos comprometidos o afecciones de salud, resultando en infecciones del tracto urinario y heridas infecciosas (Bautista, 2014).
<i>Kluyvera ascorbata</i>	Esta bacteria produce infecciones del tracto urinario pueden ocasionar enfermedades tanto en adultos como en niños. Estas infecciones pueden manifestarse con síntomas como necesidad frecuente de orinar, sensación dolorosa o de ardor al orinar, así como la presencia de orina turbia o con trazos de sangre (Uscategui et al., 2008).
<i>Burkholderia cepacia</i>	Genera infecciones respiratorias severas, especialmente en individuos afectados por fibrosis quística o con sistemas inmunológicos comprometidos. Se ha observado que provoca infecciones en pacientes hospitalizados, particularmente en aquellos que están bajo ventilación o que cuentan con catéteres permanentes (Clayton, 2017).(Clayton, 2017).
<i>Citrobacter gillenii</i>	Provoca infecciones en los peces que se manifiestan con hemorragias petequiales y anemia sistémica, tal como se ha señalado en el estudio de Türe et al. (2022).
<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	Son bacterias patógenas vegetales causando necrosis en el tallo y frutos de tomate (M. Yang et al., 2020).
<i>Pseudomonas corrugata</i>	Es una bacteria fitopatógena que provoca necrosis en la médula de los tomates. Ocasiona necrosis de los tejidos medulares, como se ha señalado en el estudio de Licciardello et al. (2007).
<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	Es fitopatógena, provoca tizón del tallo en las plantas, provocando necrosis seguido de hojas secas y finalmente la muerte de la planta, según lo reportado por Wang et al. (1995).

<i>Lelliota amnigena</i>	Es un patógeno vegetal que de manera natural ocasiona la enfermedad de la podredumbre en cebollas, como se ha documentado en el estudio de Liu & Tang. (2016)
<i>Pseudomonas japonicas</i>	Provoca bacteriemia e infecciones cutáneas en seres humanos, de acuerdo con lo observado en la investigación de Coomes et al. (2018).
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	Provoca infecciones del torrente sanguíneo, peritonitis bacteriana espontánea, meningitis e infecciones pulmonares, tal como indican los hallazgos de Abro et al. (2016).

De la lista de bacterias solubilizadoras de fósforo, se destacan las siguientes que han sido empleadas en procesos de biorremediación, pero no son solubilizadoras de fósforo.

Tabla 7. Lista de bacterias utilizadas en procesos de biorremediación de acuerdo a una revisión bibliográfica

Bacteria	Información
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Esta bacteria ha estado relacionada con múltiples aplicaciones en la agricultura, desempeñando funciones como inoculante del suelo y agente de biocontrol contra ciertos patógenos fúngicos en plantas, se ha comprobado su capacidad como inductor de resistencia sistémica y su eficacia como agente de biocontrol. Sin embargo, no se dispone de datos precisos acerca de su capacidad para solubilizar fósforo (EPA, n.d.).
<i>Pseudomonas mucidolens</i>	Esta bacteria se encuentra en el suelo y ha demostrado ser versátil en diversas aplicaciones, incluyendo la biorremediación y la eliminación de metales pesados en suelos contaminados, no existen datos concretos sobre su capacidad de solubilización de fósforo, se ha observado que contribuye positivamente a la salud ambiental ya la mejora de la calidad del suelo (Krishnaswamy et al., 2022).
<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Se ha asociado con una variedad de aplicaciones en biorremediación y promoción del crecimiento vegetal. Se ha documentado su capacidad para degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y fomentar el crecimiento de las plantas. Sin embargo, en el estudio realizado por Nascimento et al. (2021), se descubrió que esta bacteria no presentó habilidades de solubilización de fósforo.

Las bacterias *Buttiauxela gaviniae*, *Chryseobacterium joostei*, *Comamonas testosteroni*, *Lactobacillus helveticus*, *Pseudomonas azotoforman*, *P. rhodesia*, *Serratia liqueniformes*, *Staphylococcus xylosus* y *Yersenia massiliensis*, aunque se encuentran en la naturaleza y son comunes en agua, aire y suelo, no se encontró información sobre su habilidad para solubilizar fósforo. Sin embargo, en el contexto de este estudio, se ha comprobado que estas bacterias tienen la capacidad de solubilizar el fósforo, hecho que se evidencia a través de la formación de un halo transparente. Estos resultados aportan nuevos conocimientos sobre el potencial de estas bacterias para desempeñar un papel relevante en la elaboración de bioinsumos y su disponibilidad para otros organismos.

En la figura 13 se ilustra la distribución de cuatro categorías distintas de bacterias: solubilizadoras de fósforo, patógenas, utilizadas para biorremediación y sin información como

solubilizadoras de fósforo. De esta manera, el gráfico permite visualizar de manera clara cómo estas categorías de bacterias se distribuyen en el conjunto de datos analizado. Las bacterias reportadas como solubilizadoras de fosforo son 9, hay 19 bacterias patógenas, 3 bacterias que son utilizadas en biorremediación, pero, no son solubilizadoras de fósforo y 9 bacterias cuya capacidad de solubilización de fósforo aún no cuenta con información disponible.

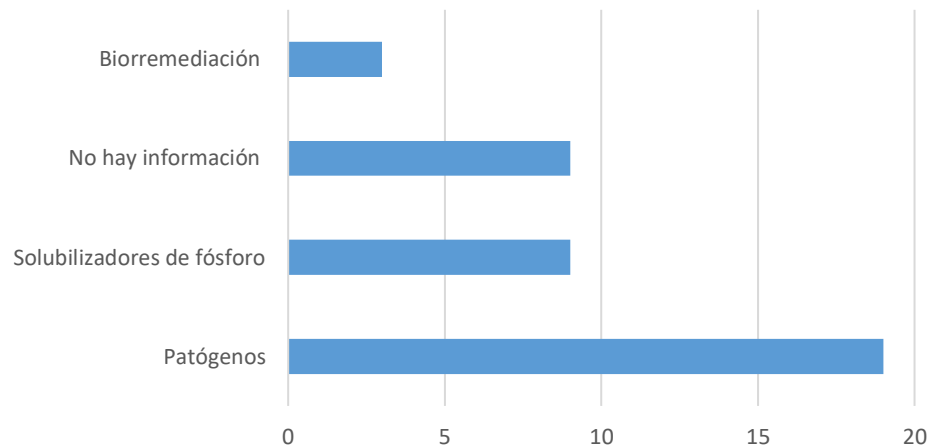


Figura 18. Gráfico del número de bacterias solubilizadoras de fósforo, patógenas, bacterias que son empleadas en procesos de biorremediación y bacterias que carecen de información como solubilizadoras de fósforo.

CAPÍTULO V

5 CONCLUSIONES

En la presente investigación se determinó las cepas bacterianas que intervienen en la solubilización del fósforo como base para procesos de biorremediación enfocándose en la generación del halo de solubilización como un indicador clave para determinar su habilidad solubilizadora, ha revelado una notable diversidad morfológica. Estas cepas exhiben características distintivas como superficie plana, forma irregular y borde redondeado. Además, se destaca la presencia de un color mayoritariamente blanco, junto con una tonalidad brillante en muchas cepas.

Entre las diversas cepas, se determinó que 40 de ellas son capaces de liberar fósforo de manera eficiente. Esto se verificó con el halo de solubilización de color amarillo claro alrededor de las colonias bacterianas. Estos halos indican que las bacterias están liberando fósforo de las fuentes naturales y convirtiéndolo en fósforo asimilable para las plantas. Entre las cepas estudiadas, destaca la bacteria *Acinetobacter iwoffi*, por su habilidad para crear un halo de solubilización de fósforo de mayor tamaño, sin embargo, a pesar de esta característica especial, no es seguro usar esta bacteria en la agricultura o en el medio ambiente debido a las complicaciones que pueden presentar para la salud de las personas y el medio ambiente.

Al verificar los requisitos de las bacterias que solubilizan fósforo, se pudo identificar que las bacterias evaluadas, 9 de ellas han sido reportadas como solubilizadoras de fósforo, destacando en las investigaciones, la bacteria *Pseudomonas fluorescens* ha demostrado ser la más eficaz y ampliamente utilizada en la creación de bioinsumos. Sin embargo, de las 40 bacterias evaluadas, 19 de ellas son patógenas para plantas, humanos o animales, lo que las descarta como candidatas para la producción de bioinsumos debido al peligro que representan.

También 9 de las 40 bacterias no han sido identificadas previamente como solubilizadoras de fósforo. A pesar de esta falta de información, en el curso de esta investigación se demostró que estas bacterias generan un halo de inhibición, indicando cierta actividad. Adicionalmente, se encontró que 3 de las cepas bacterianas no tienen la capacidad para solubilizar fósforo, pero han sido empleadas en procesos de biorremediación.

En síntesis, esta revisión bibliográfica, algunas bacterias tienen un papel relevante en la solubilización del fósforo. Aunque *Pseudomonas fluorescens* se destaca por su eficacia y uso común en bioinsumos.

CAPÍTULO VI

6 RECOMENDACIONES

Se sugiere llevar a cabo investigaciones en relación a aquellas bacterias que exhibieron halos de solubilización, pero que carecen de información documentada acerca de su capacidad de solubilización de fosfato. Estos estudios adicionales podrían permitir la incorporación de un mayor número de cepas bacterianas en el desarrollo de futuros bioinsumos.

Dado que se identificaron 40 cepas bacterianas capaces de solubilizar fósforo de manera eficiente, se sugiere que se estudien y exploren aún más estas cepas para su posible aplicación en la mejora de la disponibilidad de fósforo en el suelo. Estas bacterias podrían ser valiosas en la producción agrícola y la biorremediación de suelos contaminados.

Las 9 bacterias que no han sido identificadas previamente como solubilizadoras de fósforo, pero que demostraron cierta actividad en la solubilización, merecen una mayor investigación. Pueden representar cepas únicas y valiosas que podrían tener aplicaciones útiles en la agricultura y la biorremediación.

La bacteria *Pseudomonas fluorescens* se destacó como eficaz y ampliamente utilizada en la creación de bioinsumos, es importante explorar otras cepas eficientes y seguras. Esto puede ayudar a diversificar las opciones y reducir la dependencia de una sola bacteria en la producción de bioinsumos.

Las 3 cepas bacterianas que no tienen la capacidad para solubilizar fósforo, pero han sido utilizadas en procesos de biorremediación merecen una evaluación cuidadosa para comprender su eficacia en contextos específicos de limpieza de suelos andinos contaminados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abro, A. H., Reza, M., Shahmirzadi, R., Jasim, L. M., & Deesi, Z. Al. (2016). *Sphingobacterium multivorum* Bacteremia and Acute Meningitis in an Immunocompetent Adult Patient : A Case Report. 18(9), 10–12. <https://doi.org/10.5812/ircmj.38750.Case>
- Acuña, a J., Pucci, G. N., & Pucci, O. H. (2010). Caracterización de tres cepas bacterianas capaces de fijar nitrógeno y biodegradar hidrocarburos aisladas de un suelo de la Patagonia. *Ecosistemas* - ISSN 1132-6344, 19(2), 125–136.
- Alemu, F. (2013). Isolation of *Pseudomonas fluorescens* from rhizospheric soil of faba bean and assessment of their Phosphate solubility: in vitro study , Ethiopia. 1(7), 346–351. <https://doi.org/10.36347/sajb.2013.v01i07.001>
- Alexander, M. (1987). Introduction of soil microbiology.
- Amjad, M., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Science of the Total Environment Soil contamination with cadmium , consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601–602, 1591–1605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.030>
- Baquero, I., Tobar, M., Campos, M., Edison, S., Rosillo, A., Sánchez, M., & Landínez, L. (2007). Programa Nacional de Biotecnología Programa Nacional de Ciencia y Tecnologías Agropecuarias. Instituto Colombiano Para El Desarrollo de La Ciencia y La Teconología “ Francisco José de Caldas.”
- Barrios, M., Sandoval, E., Camacaro, O., & Borges, J. (2010). Mundo Pecuario, VI, N° 2, 151-156, 2010 Importancia del fósforo en el complejo suelo–animal. 151–156.
- Bautista, D. (2014). Enciclopedia de microbiología de los alimentos (Segunda ed).
- Beltrán, M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. 15, 101–113.
- Bonilla Buitrago, R. R., González de Bashan, L. E., Pedraza, R. O., Estrada Bonilla, G. A., & Pardo Díaz, S. (2021). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible. In *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible*. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7405019>
- Breed, R., Murray, E., & Smith, N. (1957). *Bergey´s manual of determinative bacteriology* (Seventh Ed).
- Carroll, K., Morse, S., Mietzner, T., & Miller, S. (2023). Cultivo de microorganismos.
- CCH, P. académico. (2022). Ciclo del fósforo. <https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia2/estructura-procesos-ecosistema/ciclo-fosforo>
- Clayton, D. (2017). *Burkholderia Cepacia Complex* (B. Cepacia). <https://www.cff.org/managing-cf/burkholderia-cepacia-complex-b-cepacia>
- Constanza, L., Ramírez, C., Galvez, Z. Y. A., & Burbano, V. E. M. (2014). Solubilización de fosfatos : una función microbiana importante en el desarrollo vegetal.
- Coomes, E., Silverstein, W. K., Zipursky, J. S., & Shojania, K. (2018). *Pseudomonas japonica* A Novel Cause of Bacteremia and Skin and Soft Tissue Infection. 26(5), 43–44.
- Corrales, L., Ar, Z. Y., Estefan, V., & Burbano, M. (2014). *Bacillus* : género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato *Bacillus* : a genus of bacteria that exhibits important phosphate. 165–177.
- Echeverri, J. (2018). Dinámica del fósforo en suelo-planta en regiones tropicales.

- Environmental, U. S., & Agency, P. (2018). Guía del ciudadano sobre la biorremediación.
- EPA. (n.d.). *Pseudomonas chlororaphis* strain 63-28 (006478) Fact Sheet. 28(006478).
- Fernández, L. A., Zalba, P., Gómez, M. A., Sagardoy, A., Agronomía, D. De, Nacional, U., & E-mail, B. B. (2005). Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. 23(1), 31–37.
- Filippone, M. P. (2018). Bioinsumos : componentes claves de una agricultura sostenible Bio-products : key components of sustainable agriculture. 38, 9–21.
- García, R. ., Lovaisa, N. C., & Ulla, E. L. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L .). *Rev. Agron. Noroeste Argent.*, 35(August), 19–28. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1763.8246>
- Gómez, Gretel, & Batista, C. (2019). Optimización De Medios De Cultivos Para Microorganismos, Una Valiosa Estrategia Para La Producción De Biopreparados De Interés Agrícola. *Cultivos Tropicales*, 27(3), 17–24. <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215825002.pdf>
- González, G. (2008). Bacterias solubilizadoras de fósforo. <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/bacterias-solubilizadoras-de-fosforo-t27606.htm>
- Gupta, R., Singal, R., Shankar, A., Kuhad, R. C., & Saxena, R. K. (1994). A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *Journal of General and Applied Microbiology*, 40(3), 255–260. <https://doi.org/10.2323/jgam.40.255>
- Hernandez, B., Heydrich, M., & Rojas, M. (2013). Aislamiento de bacillus solubilizadores de fosfatos. 24(2), 357–364.
- Hernández, M., Álvarez, N., & Ríos, L. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas : revisión sistemática Bioremediation of organophosphates by fungi and bacteria in agricultural soils . A systematic review em solos agrícolas : revisão sistemática. 18(1), 139–159.
- Holland, K. (2017). What Is *Klebsiella Oxytoca*?
- Ingenio, E. (2009). *Flavobacterium psychrophilum* y su patología en alevines de *Onchorhynchus mykiss* del centro piscícola El Ingenio , Huancayo *Flavobacterium psychrophilum* and its pathology in alevins of *Onchorhynchus*. 15(2), 117–124.
- Jacoby, R. O., Fox, J. G., & Davisson, M. (2002). *Biology and Diseases of Mice*. In *Laboratory Animal Medicine (Second Edi)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-012263951-7/50006-5>
- Jordan, D., Kim, Y., & Krishnan, H. (1997). *Rahnella aquatis*, a bacterium isolated from soybean rhizosphere, can solubiliza hydroxyapatite. 153, 273–277.
- Krishnaswamy, V. G., Sridharan, R., Kumar, P. S., & Fathima, M. J. (2022). Cellulase enzyme catalyst producing bacterial strains from vermicompost and its application in low-density polyethylene degradation. *Chemosphere*, 288, 132552. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132552>
- Lagler, J. C. (2017). Bioinsumos : distintas percepciones biological inputs : different perceptions making focus in the biological fertilization . 37(1), 73–89.
- Licciardello, G., Bertani, I., Steindler, L., Bella, P., Venturi, V., & Catara, V. (2007). *Pseudomonas corrugata* contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response. *FEMS Microbiology Ecology*, 61(2), 222–234. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00338.x>
- Liu, S., & Tang, Y. (2016). Identification and Characterization of a New Enterobacter Onion Bulb Decay Caused by *Lelliottia amnigena* in China. *Applied Microbiology: Open Access*, 2(2).

<https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000114>

- MacFaddin, J. F. (1985). *Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria*.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. (2015). *Brok. Biología de los microorganismos* (14a ed.).
- Montalvo, C. (2020). *Microscopia*. *Imprensa Médica*, 28(468), 55–63.
- Morocho, M. T., & Leiva-Mora, M. (2019). Microorganismos ecientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas Efficient microorganisms, functional properties and agricultural applications. *Cagricola*, 46(2), 93–103. <http://cagricola.uclv.edu.cu>
- Munera, G., & Meza, C. (2012). El fósforo elemento indispensable.
- Nascimento, F. X., Urón, P., Glick, B. R., Giachini, A., & Rossi, M. J. (2021). Genomic Analysis of the 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase-Producing *Pseudomonas thivervalensis* SC5 Reveals Its Multifaceted Roles in Soil and in Beneficial Interactions With Plants. *Frontiers in Microbiology*, 12(September). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.752288>
- Navarra, C. U. de. (2019). *Enterobacter*. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/enterobacter>
- Neira, Y. S., Cardozo, A. J. F., Torres, F. J. G., & Cáceres, E. X. U. (2020). Genes of resistance in bacterial strains associated with infections in a health services providing institution of the department of boyacá. *Salud Uninorte*, 36(2), 394–411. <https://doi.org/10.14482/sun.36.2.614.57>
- Nieto, N., & Szpinak, V. (2017). Caracterización preliminar de la actividad microbiana solubilizadora de fosfato del biofertilizante tierra nueva.
- Osorio, W. (2014). Caracterización bioquímica de microorganismos rizosféricos de plantas de vainilla con potencial como biofertilizantes 1. 25(63), 225–241. <https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15426>
- Paredes, M., & Espinosa, D. (2009). Organic Acids Produced by Phosphate Solubilizing Rhizobacteria : A Critical Review. *Terra Latinoamericana*, 28, 61–70.
- Patiño-torres, C. O. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. 10(2), 288–297.
- Pérez, A., Dr, de la O., V, J., & V, D. (2012). Hongos solubilizadores de fosfato en ficas ganaderas del departamento de Sucre. 4(1), 35–45.
- Pérez Lavalle, L., Bolívar Anillo, H. J., & Díaz Pérez, A. (2017). Biofertilizantes en Colombia. *Productos de Confeitería Nutracéutica*, 179–222. <https://doi.org/10.17081/bonga.2204.c6>
- Pincay, A., Sangoquiza, C., & Yáñez, C. (2017). Caracterización de Bacterias solubilizadoras de fósforo (*Pseudomonas* sp.), presentes en la rizósfera del maíz de 4 provincias del Ecuador.
- Pinzón, A. (2019). *Pseudomonas*. 2019.
- Prasad, P., Kalam, S., Sharma, N. K., Podile, A. R., & Das, S. N. (2022). Phosphate solubilization and plant growth promotion by two *Pantoea* strains isolated from the fl owers of *Hedychium*. September, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.990869>
- Ratón, O., Portuondo, P., Salas, F., Ramos, C., & Giro, G. (2005). Aislamiento de cepas del genero *bacillus* sp. con potencialidades para la bioprotección y la estimulación del crecimiento vegetal.
- Restrepo, F., Marulanda, G., Sandra, & Fe-pérez, Y. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica.

- Restrepo, G., Moreno, S., Pérez, Y., Vera, L., & Hernández, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. 46(1), 63–76.
- Rincón, C., & Bobadilla, C. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4–5), 319–339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)
- Rodríguez, J. (2010). Evaluación De Etapas Del Proceso Productivo De Un Bioinsumo Dirigido a La Degradación De Materiales Orgánicos Y Regulación Sanitaria De Cultivos. 97–107.
- Rodriguez, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2019). La contaminación del suelo: una realidad oculta.
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Tinción Gram. *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica*, 16(2), 166–167. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Seifert, H., Strate, A., Schulze, A., & Pulverer, G. (1993). Vascular catheter-related bloodstream infection due to *Acinetobacter johnsonii* (formerly *Acinetobacter calcoaceticus* var. *lwoffii*): report of 13 cases. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 17(4), 632–636. <https://doi.org/10.1093/clinids/17.4.632>
- Sergouniotti, A., Kontogiannis, D., & Kakkanas, C. (2023). A Case of *Serratia Fonticola* Urinary Tract Infection in an Elderly Patient. 644–645. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2023.17.002409>
- Song, Y., Wang, L. F., Zhou, K., Liu, S., Guo, L., Ye, L. Y., Gu, J., Cheng, Y., & Shen, D. X. (2023). Epidemiological characteristics, virulence potential, antimicrobial resistance profiles, and phylogenetic analysis of *Aeromonas caviae* isolated from extra-intestinal infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1084352>
- Starobinsky, G., Monzón, J., Broggi, M., & Braude, H. (2021). Bioinsumos para la agricultura que demandan esfuerzos de investigación y desarrollo Capacidades existentes y estrategia de política pública para impulsar su desarrollo en Argentina. Inta.
- Talagrand-Reboul, E., Roger, F., Kimper, J. L., Colston, S. M., Graf, J., Latif-Eugenín, F., Figueras, M. J., Petit, F., Marchandin, H., Jumas-Bilak, E., & Lamy, B. (2017). Delineation of taxonomic species within complex of species: *Aeromonas media* and related species as a test case. *Frontiers in Microbiology*, 8(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00621>
- Tártara, S. G., & Gram, C. (2013). Educación médica continua patógenos emergentes – tercera parte “ *klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas emerging pathogens – part iii.
- Teresa, M., Fernández, M. T., & Rodríguez, H. (2019). El papel de la solubilización de fósforo en los biofertilizantes.
- Türe, M., Cebeci, A., & Özcelep, T. (2022). The first outbreak of citrobacteriosis caused by *Citrobacter gillenii* in reared Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in Turkiye. *Veterinary Research Forum*, 13(3), 323–329. <https://doi.org/10.30466/vrf.2021.137808.3076>
- Uribe, A. L. (2020). Capítulo III. Control de calidad de bioinsumos recomendados para el manejo de fitopatógenos (bacterias y hongos). *Plaguicidas Microbianos: Control y Aseguramiento de Calidad*, 96-140 pp.
- Uscategui, T., Dorée, C., Chamberlain, I. J., & Burton, M. J. (2008). Antiviral therapy for Ramsay Hunt syndrome (herpes zoster oticus with facial palsy) in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5(4), 49–50. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006851.pub2>
- Wang, F., Tang, T., Guo, J., Guo, X., & Duan, Y. (1995). Ocurrencia de tizón del tallo causado por

Pseudomonas extremorientalis in Pinellia ternata in China. *Plant Disease*, 79(2), 212.

- Wesevich, A., Sutton, G., Ruffin, F., Park, L. P., Fouts, D. E., Fowler, V. G., & Thaden, J. T. (2020). Newly Named *Klebsiella aerogenes* (formerly *Enterobacter aerogenes*) Is Associated with Poor Clinical Outcomes Relative to Other *Enterobacter* Species in Patients with Bloodstream Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(9), 10.1128/jcm.00582-20. <https://doi.org/10.1128/jcm.00582-20>
- Yang, L., Huang, B., Hu, W., Chen, Y., Mao, M., & Yao, L. (2014). The impact of greenhouse vegetable farming duration and soil types on phytoavailability of heavy metals and their health risk in eastern China. *Chemosphere*, 103, 121–130. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.047](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.047)
- Yang, M., Mavrodi, D. V., Mavrodi, O. V., Thomashow, L. S., & Weller, D. M. (2020). Exploring the Pathogenicity of *Pseudomonas brassicacearum* Q8r1-96 and Other Strains of the *Pseudomonas fluorescens* Complex on Tomato. *Plant Disease*, 104(4), 1026–1031. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1989-RE>

ANEXOS

Anexo 1 Lista de Bacterias proporcionada para su respectiva reactivación en el laboratorio

NÚMERO	BACTERIA	CÓDIGO
1	<i>Chryseobacterium joostei</i>	MICON MB 001
2	<i>Pseudomonas corrugata</i>	MICON MB 002
3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	MICON MB 003
4	<i>Pseudomona protegens</i>	MICON MB 004
5	<i>Serratia marcescens</i>	MICON MB 005
6	<i>Chryseobacterium oncorhynchi</i>	MICON MB 007
7	<i>Providencia rettgeri</i>	MICON MB 008
8	<i>Serratia fonticola</i>	MICON MB 009
9	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	MICON MB 0010
10	<i>Delftia acidovorans</i>	MICON MB 0011
11	<i>Acinetobacter guillouiae</i>	MICON MB 0014
12	<i>Aeromonas molloscorum</i>	MICON MB 0016
13	<i>Aeromonas caviae</i>	MICON MB 0017
14	<i>Providencia alcalifaciens</i>	MICON MB 0018
15	<i>Aeromonas media</i>	MICON MB 0020
16	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MICON MB 0021
17	<i>Pseudomonas koreensis</i>	MICON MB 0022
18	<i>Enterobacter cloacae</i>	MICON MB 0024
19	<i>Lactobacillus helveticus</i>	MICON MB 0025
20	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	MICON MB 0026
21	<i>Enterobacter cloacae</i>	MICON MB 0028
22	<i>Pseudomonas japonica</i>	MICON MB 0032
23	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	MICON MB 0033
24	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	MICON MB 0035
25	<i>Bacillus infantis</i>	MICON MB 0037
26	<i>Serratia liqueniformes</i>	MICON MB 0040
27	<i>Bacillus spp</i>	MICON MB 0042
28	<i>Bacillus siralis</i>	MICON MB 0043
29	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	MICON MB 0048
30	<i>Lelliota amnigena</i>	MICON MB 0063
31	<i>Aeromonas hydrophila</i>	MICON MB 0064
32	<i>Staphylococcus xylosum</i>	MICON MB 0065
33	<i>Hafnia alvei</i>	MICON MB 0067
34	<i>Comamonas kerstersii</i>	MICON MB 0069
35	<i>Citrobacter gillenii</i>	MICON MB 0072
36	<i>Morganella morganii</i>	MICON MB 0074
37	<i>Providencia alcalifaciens</i>	MICON MB 0076
38	<i>Yersenia massiliensis</i>	MICON MB 0080
39	<i>Bacillus muralis</i>	MICON MB 0081
40	<i>Bacillus mycoides</i>	MICON MB 0082
41	<i>Paenibacillus odorifer</i>	MICON MB 0083
42	<i>Bacillus pumillus</i>	MICON MB 0084
43	<i>Bacillus subtilis</i>	MICON MB 0085
44	<i>Pantoea agglomerans</i>	MICON MB 0086
45	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	MICON MB 0090
46	<i>Pseudomonas mucidolens</i>	MICON MB 0091
47	<i>Lactobacillus curvatus</i>	MICON MB 0092
48	<i>Kluyvera ascorbata</i>	MICON MB 0097
49	<i>Comamonas testosteroni</i>	MICON MB 0103
50	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	MICON MB 0104
51	<i>Pseudomonas taetrolens</i>	MICON MB 0105
52	<i>Rahnella aquatilis</i>	MICON MB 0109
53	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	MICON MB 0116
54	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	MICON MB 0117
55	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	MICON MB 0118
56	<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	MICON MB 0119
57	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MICON MB 0124
58	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	MICON MB 0125
59	<i>Citrobacter braakii</i>	MICON MB 0128
60	<i>Bacillus cereus group</i>	MICON MB 0132
61	<i>Burkholderia pyrocinia</i>	MICON MB 0140
62	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	MICON MB 0145
63	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	MICON MB 0146
64	<i>Burkholderia cepacia</i>	MICON MB 0147
65	<i>Klebsiella aerogenes</i>	MICON MB 0148
66	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MICON MB 0149
67	<i>Proteus mirabilis</i>	MICON MB 0150

Anexo 2. Cuadro de las características morfológicas de las bacterias reactivadas con su respectivo código

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS																				
	Codigo	MICON MB 001	MICON MB 002	MICON MB 003	MICON MB 004	MICON MB 005	MICON MB 007	MICON MB 008	MICON MB 009	MICON MB 0010	MICON MB 0011	MICON MB 0014	MICON MB 0016	MICON MB 0017	MICON MB 0018	MICON MB 0020	MICON MB 0021	MICON MB 0022	MICON MB 0024	MICON MB 0025
Superficie.	Plana	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X		X
	Plana convexa																			
	Convexa													X						X
	Acuminada																			
	Umbilicada																			
Papilada																				
Forma	Puntiforme										X		X							
	Irregular					X		X	X						X	X	X	X		X
	Circular						X			X		X		X						
	Rizoide	X																		
	Filamentosa		X	X	X															X
Fusiforme																				
Borde	Redondeado		X	X	X			X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
	Espiculado																			
	Ondulado													X						
	Filamentoso	X						X												
	Lobulado																			
Rizoide						X														
Color	Blanco	X	X	X	X	X				X			X			X	X		X	
	Rosado																			
	Amarillo																			
	Verde																			
	Crema								X		X	X		X	X					
Naranja						X	X										X		X	
Tonalidad	Brillosa		X	X		X	X	X	X	X		X	X	X		X	X		X	X
	Opaca	X																		
Tamaño	Semitransparente				X						X				X			X		
	Grandes		X	X	X			X						X					X	
	Medianas	X				X	X		X						X	X	X	X		X
	Pequeñas									X	X	X	X							

Cuadro de las características morfológicas de las bacterias reactivadas con su respectivo código

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS BACTERIAS																				
	Codigo	MICON MB 0026	MICON MB 0028	MICON MB 0032	MICON MB 0033	MICON MB 0035	MICON MB 0037	MICON MB 0040	MICON MB 0042	MICON MB 0043	MICON MB 0048	MICON MB 0063	MICON MB 0064	MICON MB 0065	MICON MB 0067	MICON MB 0069	MICON MB 0072	MICON MB 0074	MICON MB 0076	MICON MB 0080
Superficie.	Plana	X	X	X	X	X			X			X	X	X	X		X	X	X	X
	Planaconvexa						X	X												
	Convexa																			
	Acuminada																			
	Umbilicada																			
Forma	Puntiforme								X	X	X						X			
	Irregular	X		X		X									X			X	X	
	Circular						X					X	X							
	Rizoide																			
	Filamentosa				X			X												X
Borde	Fusiforme		X											X						
	Redondeado		X		X		X		X	X	X		X	X			X	X		
	Espiculado							X												
	Ondulado											X								
	Filamentoso			X		X									X				X	X
Color	Lobulado	X																		
	Rizoide								X											X
	Blanco	X		X		X	X	X		X	X		X	X			X		X	
	Rosado		X																	
	Amarillo																	X		
Tonalidad	Verde																			
	Crema											X								X
	Naranja														X					
	Brillosa		X		X	X	X	X		X	X	X		X	X		X	X	X	
	Opaca			X									X							X
Tamaño	Semitransparente	X						X	X		X						X		X	
	Grandes	X		X	X	X		X					X						X	
	Medianas						X					X		X				X		X
	Pequeñas		X						X	X	X				X		X			

Cuadro de las características morfológicas de las bacterias reactivadas con su respectivo código

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE LAS BACTERIAS																														
	Codigo	MICON MB 0081	MICON MB 0082	MICON MB 0083	MICON MB 0084	MICON MB 0085	MICON MB 0086	MICON MB 0090	MICON MB 0091	MICON MB 0092	MICON MB 0097	MICON MB 0103	MICON MB 0104	MICON MB 0105	MICON MB 0109	MICON MB 0116	MICON MB 0117	MICON MB 0118	MICON MB 0119	MICON MB 0124	MICON MB 0125	MICON MB 0128	MICON MB 0132	MICON MB 0140	MICON MB 0145	MICON MB 0146	MICON MB 0147	MICON MB 0148	MICON MB 0149	MICON MB 0150
Superficie.	Plana	X	X	X	X	X		X					X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Planaconvexa								X	X	X	X			X														X	
	Convexa						X																							
	Acuminada																													
	Umbilicada																													
Papilada																														
Forma	Puntiforme						X	X	X	X	X	X			X								X						X	X
	Irregular			X	X			X	X			X		X			X										X			
	Circular																													X
	Rizoide					X																								
	Filamentosa		X										X						X		X	X								
Fusiforme	X														X	X	X		X		X	X		X	X		X		X	
Borde	Redondeado	X					X	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X		X	X	
	Espiculado					X																								
	Ondulado																													
	Filamentoso		X	X	X					X					X		X		X			X				X	X	X		X
	Lobulado													X																X
Color	Blanco					X			X			X		X	X								X	X						X
	Rosado									X																				
	Amarillo						X														X	X								
	Verde															X	X													X
	Crema	X	X	X	X			X			X		X					X	X						X		X			
Naranja																				X					X		X		X	
Tonalidad	Brillosa	X			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Opaca		X			X			X																					X
	Semitransparente			X	X												X								X		X			
Tamaño	Grandes				X	X		X								X	X	X							X					X
	Medianas	X	X				X		X		X			X					X	X	X	X		X		X	X		X	
	Pequeñas			X						X		X	X		X								X						X	

Anexo 3. Lista de las Bacterias Gram positivas que fueron analizadas mediante tinción de gram

Tinciones	
Bacteria	Gram +
<i>Pseudomonas corrugata</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Coco
<i>Serratia marcescens</i>	Bacilo
<i>Chryseobacterium oncorhynchi</i>	Bacilo
<i>Aeromonas caviae</i>	Bacilo
<i>Providencia alcalifaciens</i>	Coco
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas koreensis</i>	Bacilo
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Bacilo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coco
<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	Bacilo
<i>Bacillus infantis</i>	Bacilo
<i>Bacillus</i>	Coco
<i>Bacillus siralis</i>	Bacilo
<i>Acinetobacter iwoffi</i>	Coco
<i>Lelliota amnigena</i>	Coco
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Bacilo
<i>Hafnia alvei</i>	Coco
<i>Comamonas kerstersii</i>	Coco
<i>Providencia alcalifaciens</i>	Bacilo
<i>Yersenia massiliensis</i>	Coco
<i>Bacillus mycoides</i>	Coco
<i>Pantoea agglomerans</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas mucidolens</i>	Bacilo
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Coco
<i>Comamonas testosteroni</i>	Bacilo
<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	Bacilo
<i>Rahnella aquatilis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	Bacilo
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Coco
<i>Bacillus cereus group</i>	Coco
<i>Burkholderia pyrocinia</i>	Coco
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Coco
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Bacilo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Coco
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacilo

Anexo 4. Lista de las Bacterias Gram Negativas que fueron analizadas mediante tinción de gram

Tinciones	
Bacteria	Gram -
<i>Chryseobacterium joostei</i>	Bacilo
<i>Pseudomona protegens</i>	Bacilo
<i>Providencia rettgeri</i>	Bacilo
<i>Serratia fonticola</i>	Bacilo
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	Bacilo
<i>Delftia acidovorans</i>	Bacilo
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	Bacilo
<i>Aeromonas molloscorum</i>	Bacilo
<i>Aeromonas media</i>	Bacilo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas kilonensis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas kilonensis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas japonica</i>	Bacilo
<i>Serratia liqueniformes</i>	Bacilo
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Bacilo
<i>Citrobacter gilleni</i>	Bacilo
<i>Morganella morganii</i>	Bacilo
<i>Bacillus muralis</i>	Bacilo
<i>Paenibacillus odorifer</i>	Bacilo
<i>Bacillus pumillus</i>	Bacilo
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacilo
<i>Pseudomonas taetrolens</i>	Bacilo
<i>Buttiauxela gaviniae</i>	Bacilo
<i>Kluyvera ascorbata</i>	Bacilo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Bacilo
<i>Citrobacter braakii</i>	Bacilo
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	Bacilo
<i>Burkholderia cepacia</i>	Bacilo

Anexo 5. Lista de bacterias que demostraron su capacidad para solubilizar fósforo, identificados mediante la observación de un halo de crecimiento y su diámetro

Código	Bacteria	Diámetro del halo (mm)
MICON MB 001	<i>Chryseobacterium joostei</i>	3
MICON MB 002	<i>Pseudomonas corrugata</i>	4
MICON MB 003	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3
MICON MB 005	<i>Serratia marcescens</i>	3
MICON MB 009	<i>Serratia fonticola</i>	4
MICON MB 0017	<i>Aeromonas caviae</i>	3
MICON MB 0018	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10
MICON MB 0020	<i>Aeromonas media</i>	5
MICON MB 0021	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3
MICON MB 0022	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	8
MICON MB 0025	<i>Lactobacillus helveticus</i>	3
MICON MB 0032	<i>Pseudomonas japonica</i>	8
MICON MB 0035	<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	6
MICON MB 0037	<i>Bacillus infantis</i>	5
MICON MB 0040	<i>Serratia liqueniformes</i>	6
MICON MB 0048	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	20
MICON MB 0063	<i>Lelliota amnigena</i>	6
MICON MB 0065	<i>Staphylococcus xylosus</i>	5
MICON MB 0072	<i>Citrobacter gillenii</i>	6
MICON MB 0074	<i>Morganella morganii</i>	4
MICON MB 0076	<i>Providencia alcalifaciens</i>	8
MICON MB 0080	<i>Yersenia massiliensis</i>	3
MICON MB 0082	<i>Bacillus mycoides</i>	3
MICON MB 0084	<i>Bacillus pumillus</i>	6
MICON MB 0085	<i>Bacillus subtilis</i>	3
MICON MB 0086	<i>Pantoea agglomerans</i>	6
MICON MB 0090	<i>Buttiauxella gaviniae</i>	4
MICON MB 0091	<i>Pseudomonas mucidolens</i>	4
MICON MB 0097	<i>Kluyvera ascorbata</i>	3
MICON MB 0103	<i>Comamonas testosteroni</i>	4
MICON MB 0109	<i>Rahnella aquatilis</i>	5
MICON MB 0116	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	3
MICON MB 0118	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	3
MICON MB 0119	<i>Pseudomonas extremorientalis</i>	6
MICON MB 0124	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3
MICON MB 0145	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	7
MICON MB 0147	<i>Burkholderia cepacia</i>	5
MICON MB 0148	<i>Klebsiella aerogenes</i>	5
MICON MB 0149	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
MICON MB 0150	<i>Proteus mirabilis</i>	5

Anexo 6. Información acerca de las bacterias que han evidenciado su capacidad para solubilizar el fósforo.

Nombre científico	Género	Especie	Orden	Familia	Información	
<i>Acinetobacter iwoffii</i>	Acinetobacter	iwoffii	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Patógena	
<i>Aeromonas caviae</i>	Aeromonas	caviae	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Patógena	
<i>Aeromonas media</i>		media	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Patógena	
<i>Bacillus infantis</i>	Bacillus	infantis	Bacillales	Bacillaceae	Solubilizadora	
<i>Bacillus mycoides</i>		mycoides	Bacillales	Bacillaceae	Solubilizadora	
<i>Bacillus pumillus</i>		pumillus	Bacillales	Bacillaceae	Solubilizadora	
<i>Bacillus subtilis</i>		subtilis	Bacillales	Bacillaceae	Solubilizadora	
<i>Burkholderia cepacia</i>	Burkholderia	cepacia	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Patógena	
<i>Buttiauxela gaviniae</i>	Buttiauxela	gaviniae	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Sin información	
<i>Chryseobacterium joostei</i>	Chryseobacterium	joostei	Flavobacteriales	Weeksellaceae	Sin información	
<i>Citrobacter gillenbergii</i>	Citrobacter	gillenbergii	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Comamonas testosteroni</i>	Comamonas	testosteroni	Burkholderiales	Comamonadaceae	Sin información	
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Klebsiella	aerogenes	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Klebsiella oxytoca</i>		oxytoca	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		pneumoniae	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Kluyvera ascorbata</i>	Kluyvera	ascorbata	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Lactobacillus	helveticus	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Sin información	
<i>Lelliotta amnigena</i>	Lelliotta	amnigena	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Morganella morganii</i>	Morganella	morganii	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Solubilizadora	
<i>Pantoea agglomerans</i>	Pantoea	agglomerans	Enterobacterales	Erwiniaceae	Solubilizadora	
<i>Proteus mirabilis</i>	Proteus	mirabilis	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Providencia alcalifaciens</i>	Providencia	alcalifaciens	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Pseudomonas azotoformans</i>	Pseudomonas	azotoformans	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Sin información	
<i>Pseudomonas brassicacearum</i>		brassicacearum	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Patógena	
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> *		chlororaphis	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Biorremediación	
<i>Pseudomonas koreensis</i>		Koreeins	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Solubilizadora	
<i>Pseudomonas corrugata</i>		corrugata	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Patógena	
<i>Pseudomonas extremorientalis</i>		extremorientalis	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Patógena	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		fluorescens	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Solubilizadora	
<i>Pseudomonas japonica</i>		japonica	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Patógena	
<i>Pseudomonas mucidolens</i> *		mucidolens	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Biorremediación	
<i>Pseudomonas rhodesiae</i>		rhodesiae	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Sin información	
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> *		thivervalensis	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Biorremediación	
<i>Rahnella aquatilis</i>		Rahnella	aquatilis	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Solubilizadora
<i>Serratia fonticola</i>		Serratia	fonticola	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena
<i>Serratia liqueniformes</i>	liqueniformes		Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Sin información	
<i>Serratia marcescens</i>	marcescens		Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Patógena	
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	Sphingobacterium	multivorum	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Patógena	
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Staphylococcus	xylosus	Bacillales	Staphylococcaceae	Sin información	
<i>Yersenia massiliensis</i>	Yersenia	massiliensis	Enterobacterales	Yersiniaceae	Sin información	

Anexo 7. Fotografías del proceso de reactivación y clasificación de las cepas bacterianas solubilizadoras de fósforo mediante el halo de crecimiento

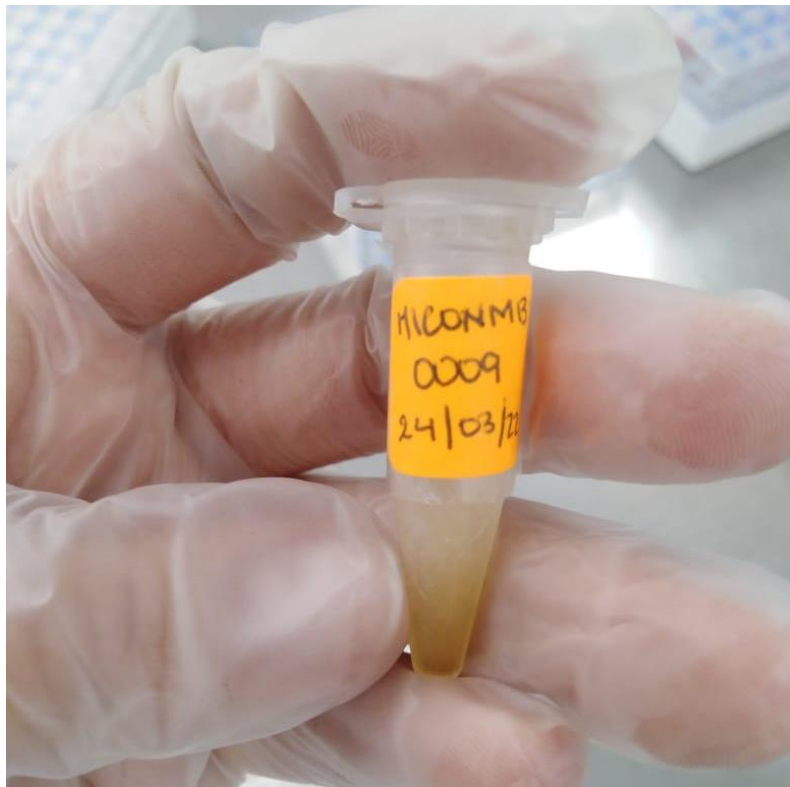


Figura 19. Bacteria almacenada en el centro de investigación



Figura 20. Reactivación de cepas bacterianas en la cámara de flujo laminar

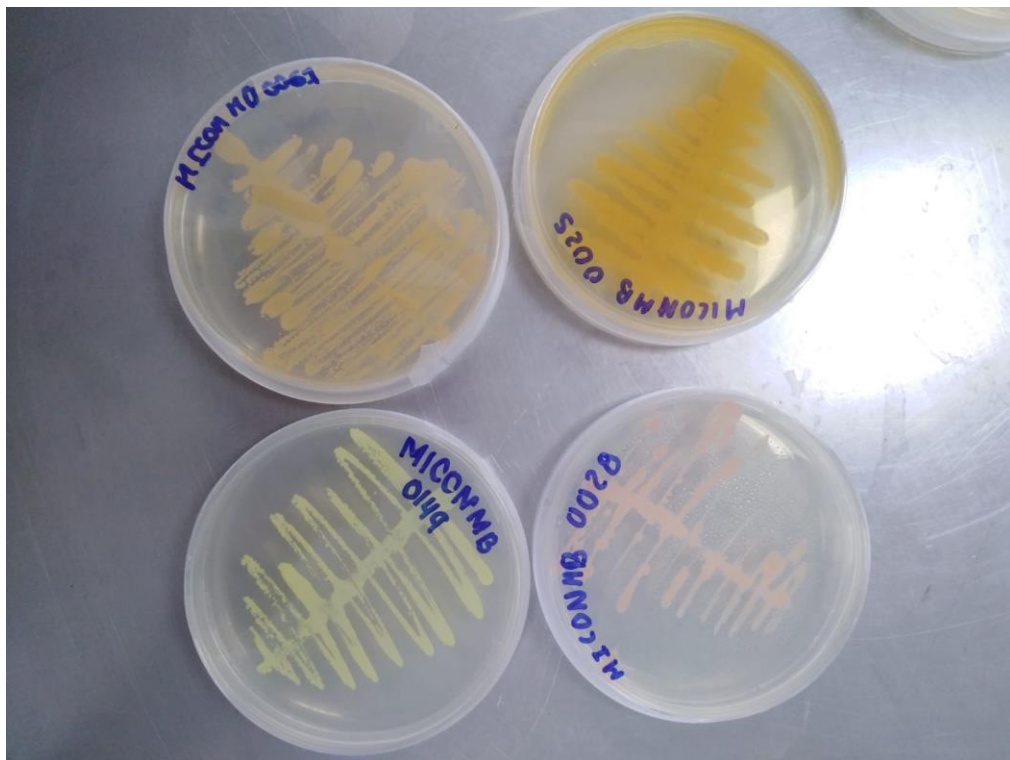


Figura 21. Crecimiento de las bacterias reactivadas con sus diferentes formas colores y tamaños

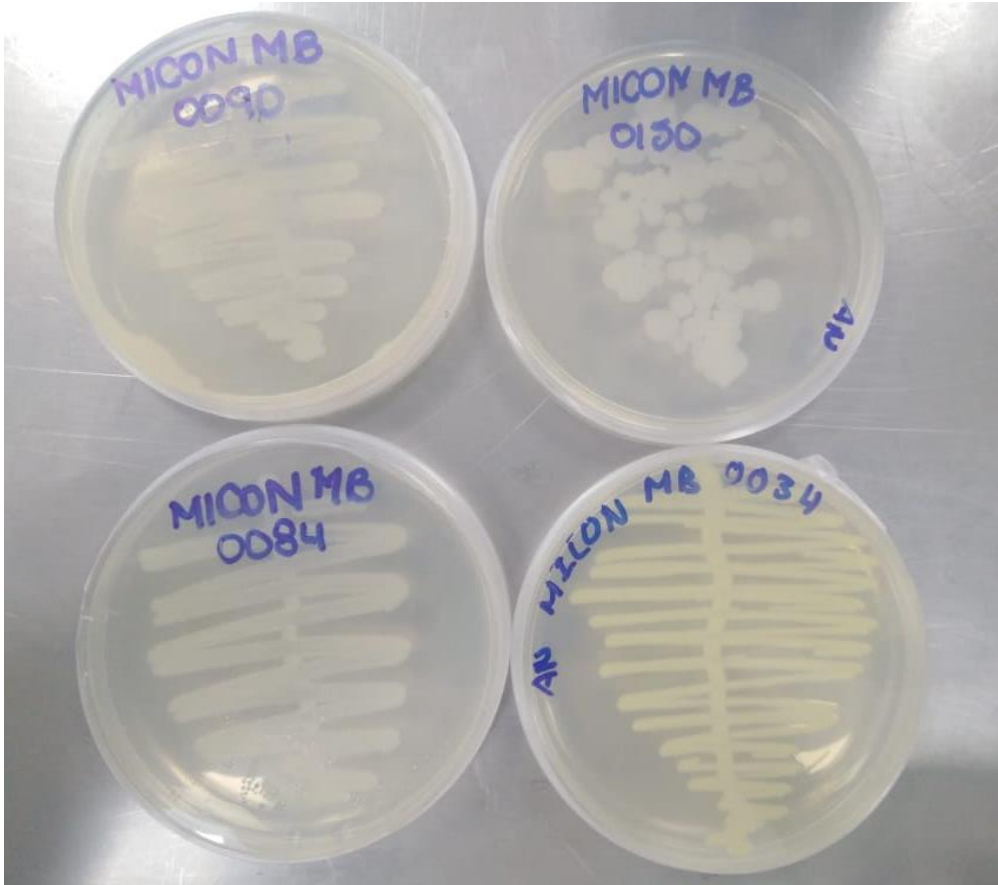


Figura 22. Crecimiento de las bacterias reactivadas con sus diferentes formas y colores.

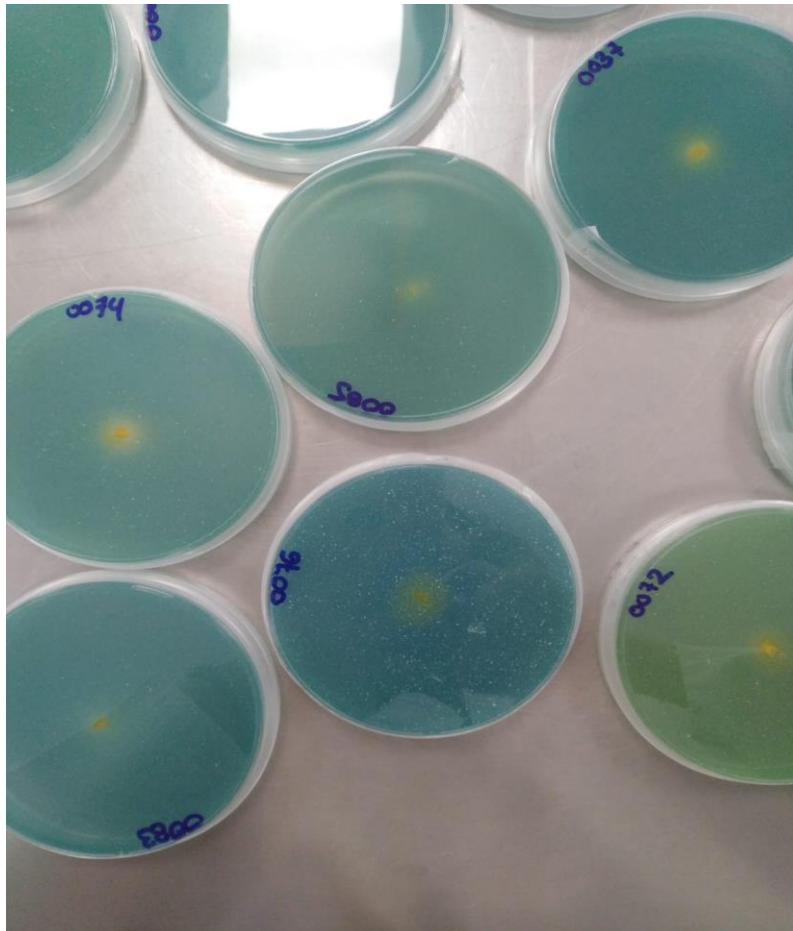


Figura 23. Siembra de las bacterias en el medio de cultivo NBRIP

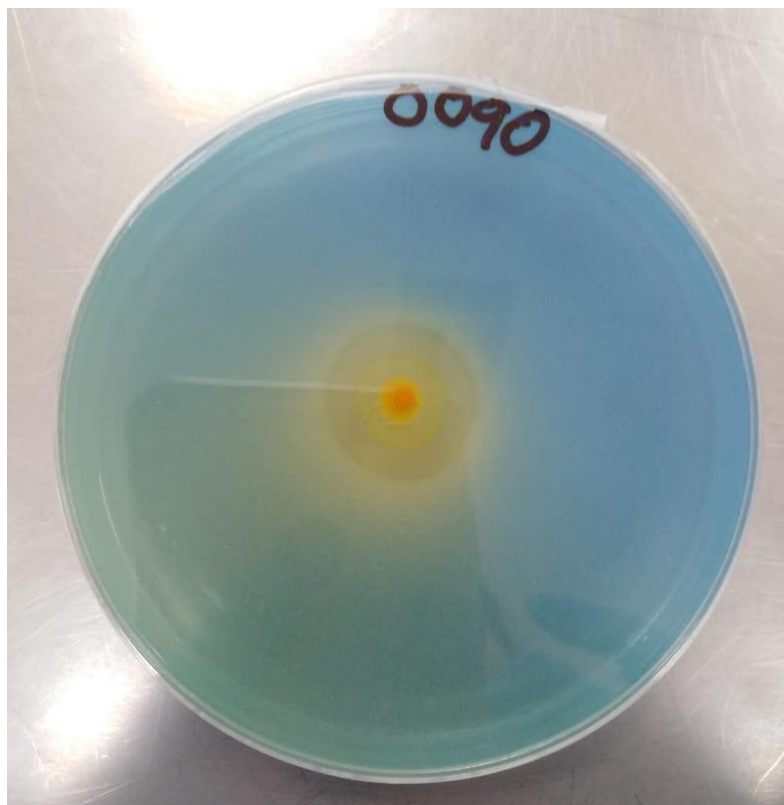


Figura 24. Crecimiento de las bacterias en el medio de cultivo NBRIP

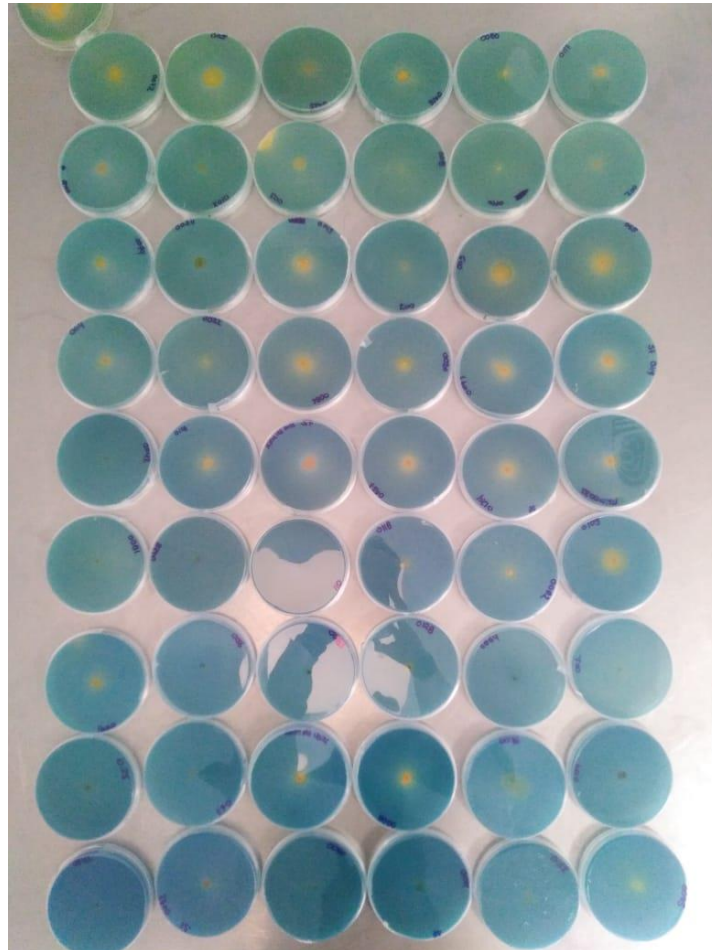


Figura 25. En el medio de cultivo NBRIP, se observa el crecimiento de las bacterias en las primeras filas, acompañado de un cambio de color, mientras que al final se encuentran las bacterias que no han experimentado crecimiento y que mantienen su color original, que es azul.

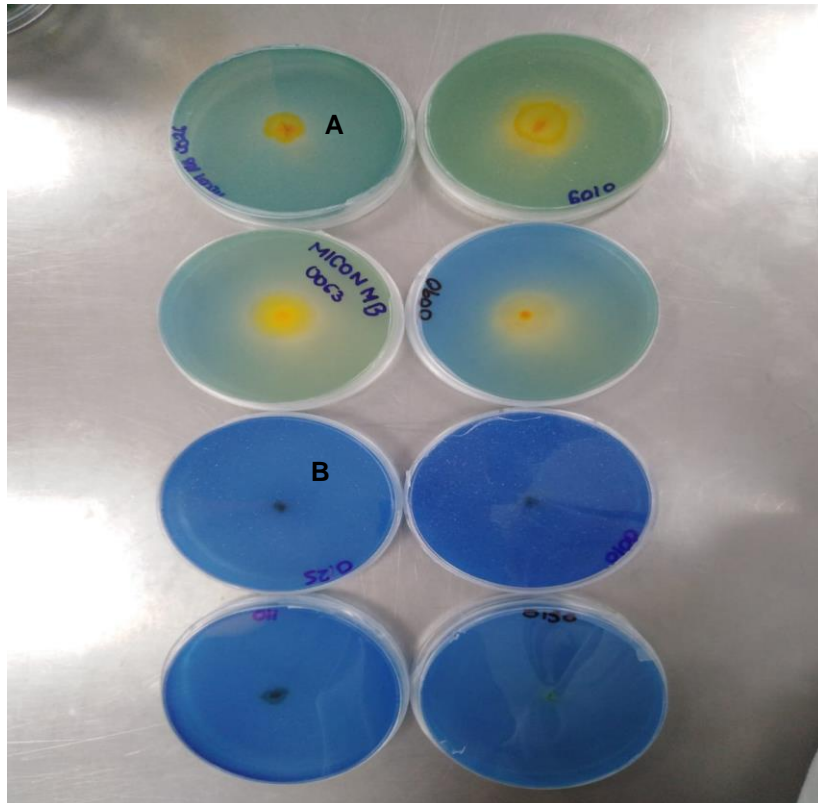


Figura 26. Evolución del crecimiento bacteriano en función del tiempo establecido.
A) Desarrollo de un halo alrededor de la bacteria, indicando su capacidad de solubilizar fósforo.
B) Bacteria que no muestra esta capacidad de solubilización de fósforo.

AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Yo, Mariela Cristina Pinos Saquinaula portadora de la cédula de ciudadanía N.º. En 0106078660 calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “Identificación de cepas bacterianas que intervienen en la solubilización del fósforo como base para procesos de biorremediación” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 de octubre del 2023



F:

Mariela Cristina Pinos Saquinaula

0106078660