

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación del microbioma de biofertilizantes generados a partir de
biofábricas

Trabajo de graduación presentado por Valeria Mayen para optar
por el grado académico de Licenciada en Bioquímica y
Microbiología

Guatemala,

2024

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación del microbioma de biofertilizantes generados a partir de
biofábricas

Trabajo de graduación presentado por Valeria Mayen para optar
por el grado académico de Licenciada en Bioquímica y
Microbiología

Guatemala,

2024

Vo.Bo.

Tribunal examinador:

Firma: Patty Herrera
MSc. Patricia Herrera

Firma: Mariafernanda Alarcón
MSc. Mariafernanda
Alarcón

Firma: Nina Figueroa
Lic. Nina Figueroa

Fecha de aprobación del examen de Graduación:

Guatemala, 09 de diciembre de 2024

Prefacio

A Dios

A mis padres Juan Antonio Mayen y Ericka de Mayen

A mi hermana Mariana

A mis abuelos Ubaldino y Leticia

A mis tíos Walter Reyna y Gabriela de Rodríguez

A mis tíos políticos Jairo Rodríguez y Claudia de Reyna

A mis amigas Diana y Laura

A mi asesora MSc. Patricia Herrera

Contenido

Prefacio.....	v
Lista de figuras	vii
Resumen	viii
Abstract	ix
I.Introducción	1
II. Antecedentes.....	2
A. Agricultura en Guatemala.....	2
B. Uso de fertilizantes	2
C. Fertilizantes químicos	2
D. Biofertilizantes	3
E. Biofábricas	3
III. Justificación.....	4
IV.Objetivos	5
V.Hipótesis	6
VI. Marco teórico	7
A. El suelo.....	7
B.Microbioma del suelo	7
1. Importancia del microbioma en la agricultura	8
C. Biofertilizantes	8
D. Biofábricas y producción de biofertilizantes	10
1. Concepto y funciones de una biofábrica.....	10
2. Microorganismos de montaña.....	10
3. Proceso de producción de biofertilizantes en biofábricas.....	11
4. Ventajas de utilizar biofertilizantes producidos en biofábricas.	11
E. Factores bióticos y abióticos que influyen en la formulación de los biofertilizantes.....	11
VII. Metodología	13
VIII. Resultados.....	22
IX. Discusión.....	27
X. Conclusiones.....	31
XI. Recomendaciones.....	32
XII. Bibliografía	33

Lista de figuras

Figura 1: Morfología colonial bacteriana	16
Figura 2: Bacteria fijadora de nitrógeno	19
Figura 3: Halos de solubilización de fosfato	20
Figura 4: Resultado positivo para la prueba de solubilización de fosfatos	26
Figura 5: Resultado positivo para la prueba de solubilización de calcio	26
Figura 6: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Bio Bórax	39
Figura 7: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Bio Multimineral	39
Figura 8: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Ácidos Húmicos	40
Figura 9: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Bio Magnesio I.....	40
Figura 10: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Bio Silicio.....	40
Figura 11: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante Bio Calcio.....	41
Figura 12: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1530-1	41
Figura 13: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1530-2.....	41
Figura 14: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1531	42
Figura 15: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1532-1	42
Figura 16: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1532-2.....	42
Figura 17: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1533.....	43
Figura 18: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1629.....	43
Figura 19: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1630-1	43
Figura 20: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1630-2.....	44
Figura 21: Resultados para las 3 pruebas específicas para el biofertilizante 1631	44
Figura 22: Tinción de Gram para los 8 biofertilizantes obtenidos de San Juan Comalapa.....	44
Figura 23: Tinción de Gram para las bacterias obtenidas de los 4 biofertilizantes de San Marcos y San Pedro Sacatepéquez	45
Figura 24: Tinción de Gram para las bacterias obtenidas de los 4 biofertilizantes de	45
Figura 25: Visualización del producto de PCR del gen 16S de las bacterias aisladas de los biofertilizantes.....	46
Figura 26: Visualización del producto de PCR del gen 16S de las bacterias aisladas de los biofertilizantes 1530- 1533.....	46
Figura 27: Visualización del producto de PCR del gen 16S de las bacterias aisladas de los biofertilizantes 1530- 1533.....	47

Resumen

El estudio se centró en aislar y caracterizar bacterias de biofertilizantes producidos por fermentadores artesanales para evaluar su composición microbiana y su potencial para promover el crecimiento de las plantas. Se analizaron muestras de San Marcos, San Juan Comalapa y San Pedro Sacatepéquez para determinar el pH, la concentración bacteriana y la diversidad. Los recuentos bacterianos oscilaron entre 10^6 y 10^{10} UFC/mL, cumpliendo con el umbral recomendado para biofertilizantes efectivos. Sin embargo, se observó una baja diversidad microbiana, ya que la mayoría de las muestras sólo contenían una o dos cepas bacterianas, probablemente debido a las interacciones competitivas y al antagonismo entre microorganismos. La caracterización bioquímica y molecular identificó *Bacillus* y *Pseudomonas* como géneros dominantes, conocidos por su solubilización de fosfatos y producción de fitohormonas. Entre los aislados claves se encontraban *Bacillus siamensis*, *B. pumilus* y *B. altitudinis*, que demostraron importantes rasgos promotores del crecimiento. Las diferencias en la composición bacteriana se atribuyeron al pH y al tipo de suelo de las regiones. El pH ácido (3.4-5.3) limitó la diversidad microbiana, favoreciendo a las especies tolerantes al ácido. A pesar de ello, las cepas aisladas mostraron rasgos metabólicos notables, formando una colección de cultivos con potencial para aplicaciones agrícolas. Esta investigación muestra la necesidad de optimizar las condiciones de fermentación para aumentar la diversidad microbiana y la eficacia de los biofertilizantes, ofreciendo valiosas perspectivas para la agricultura sostenible y la mejora de la salud del suelo.

Abstract

The study focused on isolating and characterizing bacteria from biofertilizers produced by artisanal fermenters to evaluate their microbial composition and their potential to promote plant growth. Samples from San Marcos, San Juan Comalapa and San Pedro Sacatepéquez were analyzed for pH, bacterial concentration and diversity. Bacterial counts ranged between 10^6 and 10^{10} CFU/mL, meeting the recommended threshold for effective biofertilizers. However, low microbial diversity was observed, as most samples contained only one or two bacterial strains, probably due to competitive interactions and antagonism between microorganisms. Biochemical and molecular characterization identified *Bacillus* and *Pseudomonas* as dominant genera, known for their phosphate solubilization and phytohormone production. Key isolates included *Bacillus siamensis*, *B. pumilus* and *B. altitudinis*, which demonstrated important growth-promoting traits. Differences in bacterial composition were attributed to the pH and soil type of the regions. Acidic pH (3.4-5.3) limited microbial diversity, favoring acid-tolerant species. Despite this, the isolated strains showed remarkable metabolic traits, forming a collection of cultures with potential for agricultural applications. This research shows the need to optimize fermentation conditions to increase microbial diversity and biofertilizer efficacy, offering valuable insights for sustainable agriculture and improved soil health.

I.Introducción

Guatemala, gracias a su estratégica ubicación y clima favorable, se ha consolidado como un país donde la agricultura desempeña un papel fundamental en la economía y el sustento de su población. Este sector no solo es la actividad económica con mayor porcentaje de población involucrada (29.20% en 2021), sino que también contribuye significativamente al Producto Interno Bruto (PIB), generando 62,493.52 millones de quetzales en dicho año. Sin embargo, el crecimiento poblacional proyectado para 2025, que alcanzará los 20 millones de habitantes, plantea desafíos importantes en la producción de alimentos, agravados por los impactos negativos del cambio climático, como el aumento de temperaturas.

Tradicionalmente, la agricultura guatemalteca ha dependido del uso de fertilizantes químicos para mejorar los rendimientos, lo que ha generado problemas ambientales, como la contaminación de suelos y cuerpos de agua, además de mayores costos de producción. En respuesta a estos desafíos, se han comenzado a implementar métodos sostenibles, como la agricultura orgánica y el uso de biofertilizantes, alternativas que aprovechan microorganismos benéficos para mejorar la fertilidad del suelo y reducir el impacto ambiental. Las biofábricas, por su parte, han surgido como una solución innovadora, transformando residuos agrícolas en productos de valor añadido, promoviendo así una agricultura sostenible y ofreciendo oportunidades económicas para las comunidades locales.

La agricultura en Guatemala enfrenta el reto de encontrar un equilibrio entre satisfacer las crecientes demandas alimentarias y preservar los recursos naturales, adoptando estrategias sostenibles que aseguren la calidad del suelo y el bienestar de las futuras generaciones.

II. Antecedentes

A. Agricultura en Guatemala

La ubicación de Guatemala y el clima permiten que se puedan desarrollar actividades agrícolas para subsistencia campesina, comercio nacional y exportación (Turcios Lara, 2020). En el año 2021 la actividad económica con más porcentaje de población ocupada fue la agricultura con el 29.20% de la población, también la actividad agrícola genera la mayor cantidad de Producto Interno Bruto (PIB), en el 2021 este sector generó 62,493.52 millones de quetzales a precios corrientes (*Agro En Cifras | Sistema de Información de Mercados - MAGA/Guatemala*, 2021).

Para el año 2025 se espera que la población crezca a 20 millones de habitantes, esto genera una presión en aumentar la productividad de producción de alimentos. También el cambio climático generará impactos negativos como temperaturas más altas, por lo que se requerirán estrategias para satisfacer esta necesidad. En Guatemala predominan los métodos tradicionales de fertilización para mejorar la producción de alimentos. No obstante, la agricultura orgánica empieza a utilizarse en algunos cultivos, la mayoría siendo para exportación como el café y el de las verduras (ICEX España, Exportación e Inversiones, 2018).

B. Uso de fertilizantes

Los fertilizantes son insumos esenciales para aumentar el rendimiento de los cultivos porque proveen a los cultivos con nutrientes que están limitados en el suelo. La eficiencia de los fertilizantes y la respuesta de los rendimientos en un suelo particular se puede realizar agregando diferentes cantidades de fertilizantes en parcelas, midiendo y comparando los rendimientos de los cultivos consecuentemente (De Agricultura y Desarrollo Rural, 2021). Se llevó a cabo un estudio realizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en las fincas de los agricultores bajo el primer Programa de Fertilizantes, que cubrió un período de 25 años en 40 países, en el estudio se mostró que el aumento promedio ponderado del mejor tratamiento de fertilizantes para ensayos de trigo era alrededor del 60 por ciento (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) [FAO], 2019).

C. Fertilizantes químicos

Durante años se han utilizado fertilizantes químicos porque aumentan la productividad de los cultivos. En el periodo 2018/2019 se utilizaron 181.9 millones de toneladas de fertilizante químico a nivel mundial (González Ulibarry, 2018). La agricultura convencional en Guatemala incluye el uso de cantidades altas de fertilizantes químicos y muchas veces esas cantidades no son necesarias, esto ha provocado mayores costos de producción, contaminación de suelos y agua por nutrientes muy dinámicos como el nitrógeno, que causa desbalances nutrimentales en el suelo.

Uno de los principales nutrientes de los fertilizantes es el fósforo y potasio, estos son bastante estables en el suelo, sin embargo; su aplicación ha provocado que estos nutrientes se acumulen en el suelo. Por otra parte, haber utilizado durante muchos años la fertilización química en los sistemas agropecuarios convencionales, ha inducido al desgaste progresivo de la materia orgánica nativa del suelo y al deterioro de las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo (*Instituto de Ciencia y Tecnología ICTA*, s. f.-b). Estos generan efectos negativos en el medio ambiente como la eutrofización, toxicidad del agua,

contaminación de aguas subterráneas, contaminación del aire, degradación del suelo y de los ecosistemas, desequilibrios biológicos y reducción de la biodiversidad (González Ulibarry, 2018).

En Guatemala el uso de los fertilizantes químicos ha generado efectos negativos especialmente en los cuerpos de agua. En un estudio realizado por la Unidad de Cuencas Hidrográficas del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (Maga) se determinó que las principales causas de contaminación del Lago de Atitlán son la desembocadura de drenajes en los ríos y en la cuenca del lago, así como residuos de fertilizantes químicos que son arrastrados por las lluvias (Bolaños, 2017).

D. Biofertilizantes

Dada esta razón se están empezando a utilizar biofertilizantes. Estos son formulados utilizando varios microorganismos presentes en el suelo que ayudan a aumentar la disponibilidad de nutrientes para las plantas (*Los Biofertilizantes En la Agricultura | Intagri S.C.*, s. f.). Los biofertilizantes se pueden dividir en 3 grupos:

- Fijadores de nitrógeno: utilizan microorganismos que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico.
- Solubilizadores de fosfato: utilizan microorganismos que transforman fosfato insoluble a soluble para facilitar la absorción por parte de la planta
- Promotores del crecimiento: utilizan microorganismos que tienen la capacidad de producir y liberar hormonas que regulan el crecimiento de las plantas.

(Moreno et al., 2022)

Estos en comparación con los fertilizantes químicos promueven una agricultura sostenible porque se aprovechan las bacterias benéficas presentes en el suelo. Al aprovechar estas bacterias se puede aumentar la absorción de nutrientes de las plantas y reducir la erosión del suelo (Beltrán-Pineda, 2022). Es por esto que es necesario identificar qué bacterias son benéficas y se pueden usar en bio fertilizantes.

E. Biofábricas

En Guatemala existen las biofábricas, unidades de producción de insumos agroecológicos como biofermentos, biofertilizantes con minerales o microorganismos, biofungicidas entre otros (Admin, 2021). Estas promueven una agricultura sostenible porque aprovechan los residuos agrícolas, forestales y alimentarios para convertirlos en productos de valor añadido; no intervienen en la capacidad del suelo de autorregularse porque se mantiene una incorporación de materia orgánica obtenida del mismo lugar (Fundebase, 2022). A parte de generar agricultura sostenible también es una oportunidad de negocios para los miembros de las comunidades porque se crea un modelo de microempresa, donde se aprovechan los recursos locales para beneficio de la misma comunidad (Pérez, 2023).

III. Justificación

La agricultura en Guatemala tiene un rol muy importante, pues es un sector clave en la economía del país. Esta contribuye al Producto Interno Bruto (PIB) y muchas de las comunidades rurales guatemaltecas dependen de la agricultura para tener un sustento económico (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación [MAGA], 2019). En el año 2020, el PIB ascendió a la cantidad de 78.567 millones de dólares; de los cuales, el 10.8% fue contribución del sector agrícola (ICEX España, Exportación e Inversiones, 2018). En las últimas décadas, la población mundial ha experimentado un aumento significativo, lo que ha llevado a una mayor demanda de alimentos y, por ende, a un aumento en la producción agrícola (Martinez, 2022). Para satisfacer esta necesidad creciente, la agricultura se ha intensificado creando impactos positivos y negativos.

Por un lado, los avances en la tecnología agrícola han permitido aumentar la productividad de las tierras, usando fertilizantes químicos, pesticidas y maquinaria más eficientes. Esto ha llevado a un aumento en la producción de alimentos, lo que ha sido fundamental para alimentar la demanda de la población mundial (Florez-Jalixto et al., 2021). Sin embargo, este aumento en la intensificación agrícola también ha tenido consecuencias negativas para el suelo. El uso excesivo de fertilizantes y pesticidas causa degradación del suelo y la contaminación del agua (Chávez et al., 2020). Es importante tener en cuenta el impacto negativo del uso excesivo de fertilizantes químicos en el rendimiento del suelo. Es necesario encontrar un equilibrio que permita satisfacer las necesidades alimentarias de la población actual sin comprometer la calidad del suelo.

El uso de biofertilizantes en los últimos años ha aumentado porque no solo aumenta la producción del cultivo sino también promueve una agricultura sostenible (Pérez, 2023). Al conocer los microorganismos presentes en el biofertilizante, es posible evaluar la compatibilidad del biofertilizante con otros productos agrícolas, como pesticidas, fungicidas o fertilizantes químicos, y diseñar estrategias de aplicación que maximicen su efectividad (Fundabase, 2022). El uso de biofertilizantes tiene algunas ventajas. Al inicio puede que el costo sea más alto que los fertilizantes químicos, pero los precios se reducen a largo plazo. También mejoran la estructura del suelo disminuyendo la necesidad de utilizar fertilizantes químicos y al aumentar la disponibilidad de nutrientes en el suelo la productividad agrícola aumenta, generando mayores ingresos a los agricultores (Beltrán- Pineda, 2022).

En las biofábricas crean el biofertilizante, sin embargo; no saben qué microorganismos están utilizando y entender qué microorganismos contribuyen a la actividad biológica beneficiosa del biofertilizante puede ayudar a optimizar los procesos de producción y mejorar la calidad del producto final.

La investigación se llevará a cabo junto con el Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios (CEAA), Centro de Procesos Industriales (CPI) y el Instituto de Investigaciones Universidad del Valle de Guatemala. Las muestras de biofertilizante serán brindadas por el Programa de Consorcios Regionales de Investigación Agrícola (CRIA) del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

IV. Objetivos

A. General

Aislar y caracterizar bacterias presentes en biofertilizantes desarrollados por fermentadores artesanales, para conocer la composición bacteriana de los productos.

B. Específicos

- Identificar las bacterias presentes en muestras de biofertilizantes de biofábricas mediante técnicas bioquímicas que permitan identificar bacterias promotoras del crecimiento vegetal.
- Generar un cepario de bacterias con características metabólicas asociadas a la promoción del crecimiento vegetal, identificadas mediante PCR 16S y secuenciación.
- Realizar una comparación de la composición microbiológica entre las formulaciones de las biofábricas.

V.Hipótesis

Hipótesis nula:

La composición bacteriana de los biofertilizantes desarrollados por biofábricas no varía entre las diferentes formulaciones, y no se reflejan diferencias en la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

Hipótesis alterna:

La composición bacteriana de los biofertilizantes desarrollados por biofábricas varía entre las diferentes formulaciones, lo que se refleja en diferencias en la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

VI. Marco teórico

A. El suelo

El suelo es la base para lograr cualquier actividad agrícola sostenible. Una agricultura sostenible es un conjunto de estrategias ecológicas renovadas que tienen como finalidad la preservación del medio ambiente como reducir los contaminantes ambientales y así poder maximizar la calidad agrícola (García, 2023). El suelo es el hábitat más diverso y complejo y está formado por millones de hongos, miles de millones de bacterias y otros macroorganismos. Los microorganismos presentes en el suelo desempeñan un papel importante en el ciclo de los nutrientes y protegen a las plantas de los efectos nocivos del estrés abiótico y biótico (Sokol et al., 2022). Para el año 2050 se espera que la población mundial alcance los 9.7 billones de personas (United Nations Department of Economic and Social Affairs, 2019), por lo que se están buscando metodologías para mantener la salud de los agroecosistemas, evitando el uso excesivo de insumos químicos y preservando los escasos suministros de agua (Tivedi et al., 2021).

Aumentar de manera sostenible la seguridad alimentaria, mejorar la resiliencia de los cultivos ante el estrés biótico y abiótico y reducir la huella de carbono de la agricultura requiere de innovaciones sin precedentes provenientes de diferentes disciplinas para superar los desafíos que se pueden presentar. Un enfoque prometedor es aprovechar el conocimiento de los microbiomas para beneficio de los sistemas agrícolas. Los microbiomas desempeñan roles fundamentales en la salud de los cultivos, ya que pueden influir en la nutrición de las plantas, la protección contra enfermedades y el manejo del estrés ambiental. Además, al integrar el conocimiento sobre los microbiomas con prácticas agrícolas sostenibles, se pueden crear sistemas agrícolas más resilientes y sostenibles (Tivedi et al., 2021).

Durante las últimas dos décadas se ha empezado a utilizar el término biofertilizante. Estos son productos que en su formulación contienen microorganismos vivos o latentes que ayudan a fijar nitrógeno atmosférico o solubilizadores de nutrientes del suelo, además de la secreción de sustancias promotoras del crecimiento para mejorar el crecimiento y el rendimiento de los cultivos (Basu et al., 2021). Los biofertilizantes se han utilizado como alternativa para aumentar la fertilidad del suelo y la producción de los cultivos, manteniendo una agricultura sostenible (Pedraza et al., 2019).

B. Microbioma del suelo

El microbioma del suelo es el conjunto de todos los microorganismos que están presentes en él; esto incluye hongos, bacterias, actinomicetos y protozoos. Todos estos microorganismos tienen un papel fundamental en los procesos biogeoquímicos de la materia siendo los responsables de toda la degradación de la materia orgánica muerta. Estos microorganismos forman un complejo entramado de interacciones que son fundamentales para la salud y la fertilidad del suelo. Entender la diversidad y la función de estos microorganismos en el suelo es crucial para desarrollar prácticas agrícolas sostenibles que promuevan la salud del suelo y la productividad de los cultivos (García, 2023).

Una variedad de factores bióticos y abióticos, incluida la abundancia de depredadores microbianos como protistas o nematodos y la cantidad de carbono disponible, pueden influir en la cantidad y variedad de microorganismos encontrados en un suelo en un momento dado. A escala global, la disponibilidad de humedad del suelo es el mejor predictor de la biomasa microbiana total del suelo. Los ecosistemas que

son más húmedos como bosques tropicales generalmente contienen mayores cantidades de biomasa microbiana permanente. Sin embargo, no todos los taxones microbianos son igualmente abundantes en el suelo. Las bacterias y los hongos son generalmente los microorganismos dominantes que se encuentran en el suelo (Fierer, 2017).

La diversidad del microbioma del suelo es un indicador biológico fundamental utilizado para evaluar la salud de este, tiene un papel importante en el rendimiento de los cultivos y en su estado de salud. El microbioma del suelo se ve afectado por factores ambientales como el pH, la calidad y cantidad de carbono orgánico, la humedad, la disponibilidad de nitrógeno y fósforo, la textura del suelo, la temperatura, las especies, diversidad de plantas y cultivos (Wall 2021). El microbioma del suelo determina la productividad de los agroecosistemas (Van Der Heijden et al., 2008). Una agricultura sostenible depende de la salud del suelo y la diversidad de microbios, por lo que el uso de microbios beneficiosos que mejoran la salud y la calidad de la planta y ayudan a reciclar los residuos de cultivos, lo que también tiene menores efectos ambientales son prácticas vitales para la producción sostenible de energía y alimentos (Sokol et al., 2022).

1. Importancia del microbioma en la agricultura

El microbioma, está compuesto por una diversidad de microorganismos beneficiosos, está involucrado en una serie de procesos importantes, como la descomposición de la materia orgánica, la fijación de nitrógeno, la solubilización de minerales, la protección de patógenos y la promoción del crecimiento de los cultivos (Basu et al., 2021). Se ha demostrado que el microbioma tiene una influencia en la salud, fisiología, absorción de nutrientes y los mecanismos de defensa de las plantas (García, 2023). Sin embargo, los cultivos están enfrentando desafíos relacionados con el desequilibrio microbiano, enfermedades del suelo y el uso de agroquímicos, que pueden afectar negativamente la diversidad de microorganismos en el suelo (Yapa et al., 2022).

Cuando el microbioma del suelo se ve afectado, las plantas son más susceptibles a enfermedades y a tener un crecimiento deficiente afectando la producción de los cultivos (Macik et al., 2020). La conservación de un ecosistema diverso en microorganismos es esencial debido a su mayor capacidad de recuperación. En este contexto, es fundamental promover el desarrollo del microbioma del suelo, pues este es el principal medio de interacción entre las plantas y los microorganismos (García, 2023).

C. Biofertilizantes

El biofertilizante es un producto que contiene microorganismos vivos con propiedades beneficiosas para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las cepas microbianas utilizan varios mecanismos para mejorar la absorción de nutrientes, mejorar la fertilidad del suelo y aumentar el rendimiento de los cultivos, como la fijación de nitrógeno, la solubilización de potasio y fósforo, la excreción de fitohormonas, la producción de sustancias que suprimen los fitopatógenos, la protección de las plantas contra el estrés abiótico y biótico y la desintoxicación de contaminantes subterráneos. Teniendo en cuenta las crecientes necesidades de consumo en la tierra y los peligros que surgen del uso excesivo de fertilizantes y pesticidas químicos, se cree que los biofertilizantes son una alternativa prometedora y no tóxica a los agroquímicos sintéticos (Maçik et al., 2020).

La función principal de la aplicación de biofertilizantes es promover el crecimiento de las plantas sin efectos secundarios nocivos para el medio ambiente y aumentar el rendimiento de las cosechas (Mishra et al., 2013). Según el estudio realizado por Schutz et al. (2018), la inoculación con biofertilizantes aumentó el rendimiento de cultivos de banano en promedio en un 16.2% en comparación con los controles no inoculados. Para lograr aumentar el rendimiento de las cosechas el biofertilizante se debe de aplicar en cantidades mayores para proporcionar a las plantas suficiente contenido de nutrientes, su efectividad depende de las condiciones del suelo que prevalecen en la zona de aplicación y los resultados de su acción se notan después de un uso prolongado (Jangid et al., 2012).

La formulación adecuada es uno de los factores clave para los biofertilizantes que contienen células microbianas vivas y afecta la calidad del agente biológico. La formulación se determina como un proceso durante el cual la cepa microbiana seleccionada se unifica con el portador (Bargaz et al., 2018). El producto formulado consta de un ingrediente activo establecido en un vehículo adecuado, frecuentemente con aditivos que son responsables de la estabilización y protección de los microorganismos durante el almacenamiento y el transporte (Namasivayam et al., 2014). Una buena formulación proporciona una introducción eficaz de microorganismos en el sitio objetivo y mejora su actividad para lograr los máximos beneficios después de la inoculación en la planta huésped (Maçik et al., 2020).

1. Funciones de los microorganismos en los biofertilizantes y su importancia.

Los microorganismos presentes en los biofertilizantes emplean varios mecanismos para brindar beneficios a las plantas de cultivo. Los biofertilizantes se podrían dividir en cinco grandes grupos (Doroteo, 2018):

- Fijadores de nitrógeno: han utilizado los géneros *Azotobacter*, *Rhizobium* y *Azospirillum* en biofertilizantes fijadores de nitrógeno por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y suministrarlo a la planta. El nitrógeno es un elemento esencial en la planta porque está involucrado en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, producción de clorofila, metabolismo de carbohidratos y desarrollo de los tejidos de las plantas (Bautista & Martínez, 2020).
- Solubilizadores de fosfato: han utilizado los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Rhizobium* en biofertilizantes porque tienen la capacidad de solubilizar el fósforo presente en el suelo y convertirlo a formas solubles como ácido fosfórico que es una forma más fácil para la planta de absorber (Peoza, 2021). Esta transformación de fosfatos insolubles a formas disponibles para las plantas se obtiene por procesos de quelación, reducción de hierro, y producción de ácidos orgánicos (Doroteo, 2018).
- Producción de fitohormonas: estos son microorganismos que, durante su actividad metabólica, son capaces de producir y liberar sustancias reguladoras de crecimiento para las plantas, como el Ácido abscísico (ABA) hormona que regula la respuesta al estrés, como la tolerancia a la sequía (Doroteo, 2018).
- Solubilizadores de calcio: la mejor forma para que las bacterias puedan absorber el calcio es en forma de catión (Ca^{2+}). Las bacterias solubilizadoras de calcio se encargan de convertir cualquier forma de calcio en catión para mejorar la absorción de este nutriente en las plantas (Ramos et al., 2022).
- Producción de sideróforos: los sideróforos son metabolitos secundarios que presentan alta afinidad por el hierro. En el suelo el hierro se encuentra en baja disponibilidad; algunas bacterias como *Mycobacterium* o *Nocardia* utilizan sideróforos para lograr la captación de Fe^{3+} (Aguado et al.,

2012). Los sideróforos son importantes en la promoción del crecimiento vegetal porque ayudan a las plantas a obtener hierro de manera más eficiente y también pueden tener efectos beneficiosos directos en el crecimiento y la salud de las plantas (Ramos et al., 2022).

D. Biofábricas y producción de biofertilizantes

1. Concepto y funciones de una biofábrica

Una biofábrica es un centro de producción de insumos agroecológicos. Estos insumos incluyen bioinsecticidas, biofungicidas, bionematicidas y biofertilizantes (*Biofabrica - ASPROC*, 2019). Estas biofábricas son una oportunidad de crecimiento para los agricultores, porque con los insumos producidos las cosechas mejoran y se usan de manera responsable los bienes naturales (ASOBAGRI, 2021). Esta iniciativa brinda tecnología a pequeña escala a los agricultores para mejorar la producción de sus cultivos; disminuyendo los costos de producción y reducción de uso de fertilizantes químicos, así se logra evitar la degradación del suelo y contaminar fuentes de agua dulce (Fundebase, 2022).

Una biofábrica puede producir desde insumos en pequeña escala para consumo propio, hasta insumos de escala industrial para comercialización. El tamaño de la producción va a depender de las necesidades y objetivos de la unidad productiva. La falta de control de calidad en el proceso de producción, transporte y almacenamiento de bioinsumos afecta la calidad del inoculante. Para evitar que la calidad del insumo se vea afectada se recomienda contar con personal capacitado en la producción y manejo de éstos (Infante et al., 2020).

El Gobierno de México tiene un proyecto llamado Sembrando Vida y como parte de este, le entregó a Guatemala biofábricas y paquetes agrícolas a 3189 beneficiarios de los departamentos de Chimaltenango, El Progreso, Zacapa, Jutiapa y Jalapa. Este aporte representa uno de los tres componentes de apoyo de este plan que busca potenciar la labor agrícola en México y algunos países de Centroamérica y el Caribe. Con respecto a las biofábricas, estas consisten en una malla de metal, láminas y tambos, así como reactivos con los que se podrán fabricar algunos bioinsumos. Con la ayuda de especialistas de otros países centroamericanos como Honduras y El Salvador, se capacitó a los agricultores favorecidos sobre la elaboración de insumos orgánicos, como la producción y uso de microorganismos de montaña, entre otros. Hasta el momento, este proyecto beneficia a más de 5300 guatemaltecos, de los cuales 4500 ya reciben los aportes del programa en seis departamentos. Actualmente, esta estrategia también es implementada en México, Honduras, Belice, El Salvador y Cuba (Pérez, 2023).

2. Microorganismos de montaña

Los microorganismos de montaña (MM) son inóculos microbianos con altas poblaciones principalmente de hongos, bacterias y actinomicetos, que se encuentran naturalmente en el suelo. Estos se encuentran en la capa superficial y orgánica de todo suelo de un ecosistema natural que no ha sido intervenido. En promedio hay 80 especies de microorganismos, que pertenecen a cuatro grupos: bacterias, fotosintéticos, actinomicetos, bacterias productoras de ácido láctico y levaduras. Estos microorganismos se encuentran en un ambiente natural, como en el suelo de montañas, bosques y lugares sombreados donde en los últimos tres años no se han utilizado agroquímicos (Camacho et al., 2018).

3. Proceso de producción de biofertilizantes en biofábricas

Cada biofábrica tiene su propio protocolo específico para la preparación de estos productos, lo que implica que los procedimientos pueden variar entre distintas instalaciones. En el caso particular de la biofábrica Cielo verde en Colombia, el proceso se lleva a cabo de la siguiente manera:

Para preparar un biofertilizante en una biofábrica, primero se realiza la colecta del suelo (preferiblemente bosques y lugares con sombra) de los 10 primeros centímetros de profundidad del suelo. La mejor temporada para realizar la recolección es en primavera ya que las condiciones ambientales como humedad y temperatura son las adecuadas para la reproducción de microorganismos. Después, se coloca la muestra de suelo y afrecho de trigo en una lona al aire libre y se mezcla con una pala. Por otro lado, en un recipiente de plástico de 200 litros se mezcla un poco de azúcar y agua hirviendo y los desechos orgánicos, luego poco a poco se agrega la mezcla de suelo (aproximadamente 2 sacos) con afrecho de trigo. Esta mezcla se apisona para que le salga todo el aire retenido, se tapa herméticamente y se guarda en un lugar con sombra durante 30 días (LA HUERTA DEL PROFE - CIELO VERDE, 2021).

Para realizar el biofertilizante líquido se agregan 8-10 kg de biofertilizante sólido (previamente descrito) en una bolsa tipo malla y se introduce a un tambor de 200 litros con agua hirviendo y azúcar. Se tapa el tambor y es ideal utilizar una tapa con sistema de captura de gases (CO₂). El tambor debe quedar bajo sombra por unos 15 días. Durante ese tiempo las comunidades de microorganismos se reproducen. Pasados los 15 días el biofertilizante ya está listo para usar y se puede aplicar en el campo (LA HUERTA DEL PROFE - CIELO VERDE, 2021).

4. Ventajas de utilizar biofertilizantes producidos en biofábricas.

Utilizar biofertilizantes permite aprovechar los residuos orgánicos y su producción consume menos energía que la formulación de un fertilizante químico (Medina et al., 2021). En términos económicos también representan una gran ventaja competitiva porque crearlos solamente cuesta el 10% de lo que un fertilizante químico cuesta (Gobierno de México, 2019). La instalación de la biofábrica es una oportunidad de negocio para los agricultores, porque se genera un modelo de microempresa comunitaria para la venta de los biofermentos, en el cual se aprovechan los recursos locales, en beneficio de las propias comunidades (FUNDEBASE, 2022).

E. Factores bióticos y abióticos que influyen en la formulación de los biofertilizantes

En las biofábricas crean el biofertilizante, sin embargo; no saben qué microorganismos están utilizando y entender qué microorganismos contribuyen a la actividad biológica beneficiosa del biofertilizante puede ayudar a optimizar los procesos de producción y mejorar la calidad del producto final. Los microorganismos en el biofertilizante interactúan entre sí y esta interacción puede potenciar la eficacia del biofertilizante o disminuirla. Las interacciones más comunes son:

- Competencia: los microorganismos compiten por recursos como nutrientes y esto influye en la composición del microbioma y puede disminuir la eficacia del biofertilizante (Raimi et al., 2020).

- Sinergia: los microorganismos pueden interactuar de forma sinérgica, esto quiere decir que juntos tienen una mejor eficacia en comparación de estar de forma individual (Raimi et al., 2020).
- Antagonismo: algunos microorganismos pueden inhibir a otros. Esta interacción afecta de manera negativa la eficacia del insumo (Pirttilä et al., 2021)

Existen varios factores que afectan la composición de los microorganismos en los biofertilizantes. El factor que más afecta la composición es el proceso de fermentación. Las condiciones en las que ocurre este proceso como el pH, la temperatura influye en los microorganismos que van a estar presentes (Martínez, 2024).

- Fermentación: la fermentación es un proceso crucial en la producción de biofertilizantes, ya que es durante este proceso que los microorganismos presentes en el biofertilizante comienzan a descomponer la materia orgánica y liberar nutrientes. Una fermentación adecuada puede aumentar la disponibilidad de nutrientes y mejorar la actividad microbiana del biofertilizante. Por otro lado, una fermentación inadecuada o incompleta puede resultar en un producto final con una menor concentración de nutrientes y una actividad microbiana reducida, lo que afectaría negativamente su calidad (Sánchez et al., 2022).
- pH: el pH del biofertilizante puede tener un impacto significativo en su eficacia. La mayoría de los microorganismos beneficiosos en el suelo prefieren un pH ligeramente ácido a neutro para crecer y prosperar. Por lo tanto, es importante que el pH del biofertilizante esté dentro de este rango para garantizar que los microorganismos puedan sobrevivir y ser efectivos una vez aplicados al suelo. Un pH fuera de este rango puede inhibir el crecimiento microbiano y reducir la eficacia del biofertilizante (Sanchez et al., 2022).
- Temperatura: la temperatura también juega un papel importante en la calidad del biofertilizante. Las altas temperaturas pueden matar a los microorganismos beneficiosos presentes en el biofertilizante, mientras que las temperaturas demasiado bajas pueden ralentizar su metabolismo y reducir su actividad. Por lo tanto, es importante mantener el biofertilizante a una temperatura adecuada durante su producción y almacenamiento para preservar la viabilidad de los microorganismos y mantener la calidad del producto final (Hernández et al., 2023).

Las condiciones de almacenamiento también influyen en la composición del microbioma. Si el biofertilizante no es almacenado en las condiciones de humedad y temperatura adecuadas, causará pérdida de viabilidad de los microorganismos y disminuirá la eficacia del biofertilizante (Hernández et al., 2023). Es importante estudiar las interacciones microbianas antes de realizar el biofertilizante porque algunos microorganismos pueden competir por recursos; mientras que la interacción de otros promueve el crecimiento mutuo (Hakeem et al., 2021).

VII. Metodología

A. Sitio de estudio

En este proyecto se incluyen los municipios de San Juan Comalapa, San Pedro Sacatepéquez y el departamento de San Marcos. Esta investigación fue llevada a cabo por el Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios, en el marco de un proyecto financiado por el Programa de Consorcios Regionales de Investigación Agrícola (CRIA) del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

B. Sujeto de estudio

El sujeto de estudio fueron los biofertilizantes fabricados en tres biofábricas artesanales.

C. Diseño, enfoque y tipo de investigación

La presente investigación es de carácter exploratorio, con un diseño analítico y de corte transversal.

D. Tipo y tamaño de muestra

Se muestrearon diferentes biofertilizantes de tres diferentes biofábricas de las regiones norte y occidente de Guatemala.

E. Criterios de inclusión y exclusión

Se utilizaron 18 muestras de biofertilizantes de distintas biofábricas artesanales. Para analizar la muestra de biofertilizante esta cumplió con los siguientes criterios:

- Biofertilizante líquido fabricado con microorganismos de montaña
- Biofertilizante formulado en biofábrica artesanal ubicada en la región norte u occidente del país.

Criterios de exclusión:

- Biofertilizante sólido fabricado con otro material que no sean microorganismos de montaña
- Biofertilizante que no sea formulado en biofábrica artesanal
- Biofertilizantes fabricados en otra región del país que no sea la región norte u occidente del país.

F. Variables

Cuadro 1: Variables, definiciones y mediciones utilizadas en la investigación sobre biofertilizantes
(Continuación en la siguiente página)

Variable	Definición conceptual	Indicador	Mediciones	Instrumento de medición	Definición operacional
Bacterias promotoras del crecimiento	Presencia de bacterias que presentan características promotoras del crecimiento	Crecimiento en diferentes medios selectivos que muestran la característica deseada	Positivo para alguna de las características de bacterias promotoras de crecimiento	Medios de cultivo	Identificar características de las bacterias aisladas.
Biofábrica	Instalación donde se producen productos biológicos para la agricultura	Producción de biofertilizantes y otros productos biológicos para la agricultura	Volumen de producción de biofertilizantes y otros productos biológicos para la agricultura	Medición de la producción en toneladas o litros	Instalación donde se producen productos biológicos para la agricultura, como biofertilizantes, biopesticidas, y otros productos
Bacterias solubilizadoras de fosfato	Bacterias que pueden convertir el fosfato inorgánico en una forma soluble	Índice de solubilización de fosfato	Positivo cuando hay clarificación en el agar	Medio NBRIP	Las bacterias solubilizadoras de fosfato son bacterias capaces de convertir el fosfato inorgánico presente en el suelo en una forma soluble que las plantas pueden absorber
Bacterias fijadoras de nitrógeno	Bacterias que pueden convertir el nitrógeno atmosférico en formas que las plantas pueden absorber	Porcentaje de nitrógeno atmosférico fijado en formas utilizables por las plantas	Positivo cuando las bacterias crecen formando una película bajo la superficie del medio	Medio Nfb	Las bacterias fijadoras de nitrógeno son bacterias capaces de convertir el nitrógeno atmosférico en formas que las plantas pueden absorber

Cuadro 1: Variables, definiciones y mediciones utilizadas en la investigación sobre biofertilizantes
(Continuación)

Variable	Definición conceptual	Indicador	Mediciones	Instrumento de medición	Definición operacional
Bacterias solubilizadoras de calcio	Bacterias que pueden convertir el calcio inorgánico en una forma soluble	Índice de solubilización de calcio	Positivo cuando hay presencia de halos	Medio Pikovskaya	Las bacterias solubilizadoras de calcio son bacterias capaces de convertir el calcio inorgánico presente en el suelo en una forma soluble que las plantas pueden utilizar
Bacterias productoras de fitohormonas	Bacterias que producen hormonas vegetales que promueven el crecimiento de las plantas	Producción de fitohormonas	µg o ng de fitohormonas producidas por unidad de tiempo	espectrofotómetro para la determinación de fitohormonas producidas	Bacterias capaces de producir hormonas vegetales que promueven el crecimiento de las plantas
pH	Medida de la acidez o basicidad de una solución, definida como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno (H ⁺) presentes en la solución.	Valor numérico que se obtiene a partir de la medición de la concentración de iones hidrógeno en una solución. Este valor se expresa en una escala de pH que va de 0 a 14.	Las mediciones de pH se realizarán en diferentes soluciones o muestras para determinar su acidez o alcalinidad.	Potenciómetro	La medición se llevará a cabo sumergiendo el electrodo del potenciómetro en la solución a analizar y registrando el valor de pH mostrado en la pantalla del dispositivo.

G. Instrumentos de medición

Cuadro 2: Instrumento de toma de dato para las pruebas bioquímicas

Código de bacteria	Biofábrica de donde proviene el producto	Fecha de colecta	Sitio de colecta	Tinción de Gram	Prueba fijación de nitrógeno	Prueba solubilización de fosfatos	Producción de fitohormonas	Prueba de bacterias solubilizadoras de calcio	Prueba de sideróforos

Para fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, solubilizadoras de calcio y sideróforos + será tomado como positivo y – como negativo

H. Metodología

1. Aislamiento de bacterias a partir de la muestra de biofertilizante (Paguay & Vasco, 2013)

Se prepararon diluciones seriadas hasta 10^{-6} , comenzando con 1 ml de la muestra y 9 ml de solución salina. Se inocularon 100 μ l de las últimas tres diluciones (10^{-4} a 10^{-6}) en agar nutritivo y se incubaron a 30°C durante 24 horas. Se observaron las colonias en las placas inoculadas y se identificaron los diferentes tipos coloniales basados en características morfológicas (Figura 1; Vargas, 2014), y se realizó un conteo de cada dilución. Para obtener cultivos puros de las colonias seleccionadas, se utilizaron placas de agar nutritivo, dependiendo del número de colonias recuperadas. Se realizó una tinción de Gram, se visualizaron las preparaciones en el microscopio y se anotaron los resultados. Posteriormente, se llevaron a cabo pruebas bioquímicas.



FIGURA 1: MORFOLOGÍA COLONIAL BACTERIANA

(Vargas, 2014)

2. Medición de pH de los biofertilizantes (Beretta et al., 2014)

Se colocó un poco de biofertilizante en un recipiente limpio. Luego, se conectó el potenciómetro a una fuente de alimentación y se encendió el dispositivo. Se calibró el potenciómetro utilizando soluciones tampón con pH conocidos para asegurar la precisión de la medición. Posteriormente, se enjuagó el electrodo del potenciómetro con agua destilada y se secó suavemente con un papel absorbente sin frotar. Después de la calibración, se sumergió el electrodo en el biofertilizante, asegurándose de que el electrodo estuviera completamente sumergido pero sin tocar el fondo del recipiente. Se esperó a que la lectura se estabilizara y se registró el valor de pH mostrado en la pantalla del potenciómetro. Finalmente, se enjuagó nuevamente el electrodo con agua destilada y se almacenó.

3. Preparación de medios específicos (Laboratorio de Protección Vegetal, s.f)
 Los medios específicos se prepararon siguiendo las indicaciones:

Medio Pikovskaya

Reactivo	500ml	unidad
Glucosa	5	g
Fosfato de calcio/ fosfato tricalcico	1.25	g
Carbonato de calcio	1.25	g
Sulfato de amonio	0.25	g
Cloruro de sodio	0.05	g
Sulfato de magnesio heptahidratado	0.025	g
Cloruro de potasio	0.10	g
Extracto de levadura	0.25	g
Sulfato de manganeso	0.05	g
Agar	10	g
pH: 7.0		

Medio NBRIP

Reactivo	500ml	unidad
Glucosa	5	g
Fosfato de calcio/ fosfato tricalcico	1.25	g
Cloruro de magnesio hexahidratdo	1.25	g
Sulfato de magnesio heptahidratado	0.25	g
Cloruro de potasio	0.10	g
Sulfato de amonio	0.05	g
Agar	7.5	g
pH:7.0		

Medio NFB

Reactivo	500ml	unidad
Ácido málico	2.5	g
Fosfato dipotásico	0.25	g
Sulfato de magnesio heptahidratado	0.10	g
Cloruro de sodio	0.05	g
Cloruro de calcio	0.01	g
Solución de micronutrientes	1	ml
Solución de azul de bromotimol	1	ml
EDTA-Fe	2	ml
Solución de vitaminas	0.50	ml
Agar	7.5	g
pH: 5.5		

Solución de azul de bromotimol

0.5% en 0.2N KOH

Solución de micronutrientes

Reactivo	100ml	unidad
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	0.04	g
Sulfato de zinc heptahidratado	0.012	g
Ácido bórico	0.14	g
Molibdato de sodio dihidratado	0.1	g
Sulfato de manganeso (II) monohidratado	0.15	g

Solución de vitaminas

	Cantidad
Reactivo	100ml
Biotina	0.01g
Piridoxina HCl	0.02g

4. Pruebas bioquímicas (Paguay & Vasco, 2013)

Producción de fitohormonas

Con un asa se tomaron las bacterias aisladas y se transfirieron a microtubos de 1.5 ml con solución salina, cultivándose durante 48 horas. Se preparó una serie de soluciones de 500 µl cada una, con el reactivo comercial IAA diluido en metanol, en concentraciones de 0 a 50 µg/ml, con incrementos de 5 µg/ml. Se agregó 1 ml del reactivo de Tang y Bonner a cada uno de los tubos, se cerraron y se mezclaron por inversión. Los tubos fueron incubados en oscuridad durante 15 minutos. Después de este tiempo, se leyó la absorbancia de cada tubo a 530 nm. Se determinó la concentración de IAA producida por cada aislamiento utilizando la curva estándar preparada con el reactivo comercial.

Precaución: El reactivo de Tang y Bonner contiene H₂SO₄ al 30%, por lo que se agregó cuidadosamente en una campana de extracción de gases y utilizando guantes. Las puntas de pipeta, cubetas de espectrofotómetro y microtubos que entraron en contacto con el reactivo fueron neutralizados con bicarbonato de sodio antes de su lavado o descarte.

Detección de bacterias fijadoras de nitrógeno:

Se tomó una caja Petri con medio NFB y se colocaron 3 discos de papel sobre el medio. A cada disco se le agregaron 10 µl de la solución con bacterias. La caja fue incubada durante 5 días a 27°C, y conforme pasaron los días, las bacterias capaces de fijar nitrógeno crecieron formando una película bajo la superficie del medio. Se repitió el proceso con la cantidad de bacterias que se habían aislado. En la figura 2 se puede visualizar la apariencia del medio cuando la bacteria es capaz de fijar nitrógeno.

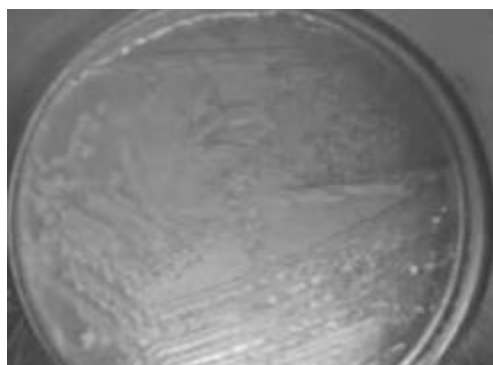


FIGURA 2: BACTERIA FIJADORA DE NITRÓGENO

(PÉREZ-CORDERO ET AL., 2014)

Detección de bacterias solubilizadoras de fosfatos:

Se tomó una caja Petri con medio NBRIP y se colocaron 3 discos de papel sobre el medio. A cada disco se le agregaron 10 µl de la solución con bacterias. La caja fue incubada durante 5 días a 27°C, y con el paso de los días, se observó si el agar presentaba clarificación. La solubilización de fosfatos se evidenció como una clarificación en el agar, que pasó de turbio a transparente, junto con un cambio en el indicador de pH, de azul a amarillo. Se repitió el proceso con la cantidad de bacterias que se habían aislado. En la figura 3 se puede visualizar la apariencia del medio cuando la bacteria es capaz de solubilizar fosfato.



FIGURA 3: HALOS DE SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO

(PÉREZ-CORDERO ET AL., 2014)

Detección de bacterias solubilizadoras de calcio

Se tomó una caja Petri con medio Pikovskaya y se colocaron tres discos de papel sobre el medio. A cada disco se le agregaron 10 µl de la solución con bacterias. La caja fue incubada durante 5 días a 27°C, y con el paso de los días, se midieron los halos de crecimiento. Se repitió el proceso con la cantidad de bacterias que se habían aislado.

5. Extracción de ADN bacteriano (Laboratorio de Protección Vegetal, s.f)

Se realizó la limpieza de la campana de flujo laminar destinada para trabajar con bacterias, siguiendo el procedimiento LPV-PTE-1011 para la limpieza y desinfección de la campana. Luego de esperar 15 minutos, se apagó la luz UV y se encendió el flujo de la campana para comenzar el trabajo. A continuación, se rotuló un tubo de 1.5 ml con el código de la muestra y la fecha de extracción de ADN, y se le añadieron 400 µl de agua desmineralizada estéril. También se rotuló una caja Petri con AN, incluyendo el código de la muestra, la fecha y la etiqueta "PCR", para preservar la colonia de la cual se extraería el ADN. Si era necesario, se dividió la caja Petri en varias secciones para preservar hasta cuatro muestras diferentes. Se seleccionó una colonia aislada de la caja Petri, que fue marcada con un círculo en la parte inferior. El asa de punta fue esterilizada con el incinerador de asas y, tras esperar a que alcanzara

una temperatura adecuada, se utilizó para picar la colonia seleccionada e inocular la caja Petri previamente rotulada. Posteriormente, el asa fue esterilizada de nuevo y colocada en su soporte.

Se procedió a esterilizar un asa en argolla, también utilizando el incinerador de asas, y se esperó hasta que no dañara las bacterias antes de tomar la colonia completa y transferirla al tubo con 400 µl de agua desmineralizada estéril. La mezcla fue realizada con la misma asa o utilizando un vórtex. Luego, el asa en argolla fue nuevamente esterilizada y colocada en su soporte. El tubo fue centrifugado durante aproximadamente 10 minutos para asegurar que todo el líquido bajara por las paredes del tubo. Finalmente, el tubo se incubó a -20°C por 20 minutos.

6. Análisis por PCR 16s (Laboratorio de Protección Vegetal, s.f)

Para realizar la amplificación del gen 16S rRNA mediante PCR, primero se extrajo el ADN genómico de las bacterias seleccionadas. Posteriormente, se preparó una mezcla de reacción de PCR en un volumen total de 26 µl, que incluyó una mezcla de reacción con las siguientes concentraciones iniciales: 10X de buffer con MgCl₂, 200 µM de dNTPs, 10 µM de primer 27F, 10 µM de primer 1492R, 5 U/µl de Taq polimerasa y ADN genómico en una concentración variable según la muestra.

El programa en el termociclador fue el siguiente: El programa en el termociclador fue el siguiente: comenzó con 94°C durante 3 minutos, luego siguió con 94°C durante 45 segundos, 50°C durante 60 segundos y 72°C durante 90 segundos. Estos pasos se repitieron un total de 35 veces. Después, se realizó una etapa de 72°C durante 10 minutos, y finalmente se mantuvo a 4°C en modo HOLD.

Posteriormente, para visualizar el producto se utilizó un gel de agarosa 1.3%. Para ello se pesaron 0.4g de agarosa y se disolvieron en 30ml de buffer. Se cargaron las muestras a gel y se dejó correr por 40 minutos a 85 voltios. Por último, los productos de PCR se enviaron a Macrogen para realizar la secuenciación.

7. Cepas almacenadas a -80°C (Laboratorio de Protección Vegetal, s.f)

Se añadió 0.5 ml de caldo nutritivo para bacterias a un criotubo utilizando una micropipeta. Se seleccionaron las bacterias de interés del cultivo puro. Se colocó el asa en aro en el incinerador o mechero de alcohol hasta que estuvo estéril, se retiró y se dejó enfriar. Se tomó una asada de la cepa a aislar, se introdujo en el tubo con el caldo respectivo y se mezcló. Se cerró el tubo y se llevó al vórtex para homogenizar. Se agregó 0.5 ml de glicerol estéril al criotubo y se mezcló por inversión. Se identificaron las cepas con la especie, cultivo y muestra de origen, fecha de siembra e iniciales del analista. Finalmente, se almacenó el criotubo con la cepa en un congelador a -80°C.

VIII. Resultados

El Cuadro 2 presenta los resultados de las pruebas bioquímicas y tinciones de Gram de bacterias aisladas de las muestras de biofertilizantes recolectadas de distintos sistemas de fermentación artesanal, conocidos como biofábricas. La tinción de Gram reveló una mayor prevalencia de bacterias Grampositivas y con morfología de bacilos. Los resultados de las pruebas bioquímicas confirmaron la presencia de bacterias promotoras de crecimiento vegetal, porque producen fitohormonas, solubilizan fosfatos y calcio; aunque no se observó ninguna con capacidad de fijar nitrógeno. Los rangos de halos de solubilización de fosfato y calcio fueron de (0.7-2.1) y (0.6-1.5) milímetros respectivamente. Asimismo, el pH de los biofertilizantes, que varió entre 3.40 y 5.3, puede influir en la composición y actividad microbiana. Finalmente, la concentración bacteriana en cada biofertilizante se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro, proporcionando una visión integral de la diversidad bacteriana y las características fisicoquímicas según el origen y condiciones de producción.

Cuadro 2: Características coloniales y resultados de pruebas bioquímicas (Continuación en la siguiente página)

Lugar de recolección	Muestra	pH	Desc de la colonia	Tinción de Gram y morfología	Resultado de pruebas específicas y su halo de crecimiento (cm)			IAA (ng/mL)	Cantidad de bacterias en el biofertilizante (UFC/mL)
					P1	P2	P3		
San Juan Comalapa	Bio Calcio	5.33	Colonia irregular, borde lobulado, textura lisa y brillante	Bacilos +	+ (1.4)	+ (0.7)	-	10.336	3.4×10^9
	Bio Bórax	4.85	Colonia circular y elevada, borde entero, textura rugosa y brillante	Bacilos +	+ (1.2)	+ (0.9)	-	10.034	7.4×10^9
	Bio Magnesio I	3.40	Colonia irregular, borde lobulado, textura lisa y brillante	Bacilos+	-	-	-	10.146	1.0×10^9
	Bio Magnesio II	3.60	Colonia circular y plana, borde entero	Bacilos -	-	-	-	8.102	4.3×10^9

Cuadro 2: Características coloniales y resultados de pruebas bioquímicas (Continuación)

Lugar de recolección	Muestra	pH	Desc de la colonia	Tinción de Gram y morfología	Resultado de pruebas específicas y su halo de crecimiento (cm)			IAA (ng/mL)	Cantidad de bacterias en el biofertilizante (UFC/mL)
					P1	P2	P3		
San Juan Comalapa	Bio Silicio	4.68	Colonia irregular, borde ondulado	Bacilos+	-	+(0.9)	-	10.092	9.5×10^9
	Bio Potasio	3.44	Colonia irregular, borde lobulado, textura rugosa sin brillo	Bacilos +	+(1.5)	+(0.9)	-	5.998	3.0×10^9
	Ácidos húmicos	4.43	Colonia circular y plana, borde entero, textura lisa y brillante	Bacilos -	-	-	-	9.931	7.6×10^9
	Bio Mineral	4.14	Colonia filamento sa, textura rugosa y sin brillo	Bacilos +	-	-	-	10.008	1.04×10^8
San Marcos	LPV-24-1530 1	4.25	Colonia circular, borde entero, textura lisa, brillante y elevada	Cocos +	-	-	-	7.674	2.7×10^9
	LPV-24-1530 2		Colonia circular, borde entero, textura lisa, opaca y plana	Cocos -	-	-	-	10.983	4.9×10^8

Cuadro 2: Características coloniales y resultados de pruebas bioquímicas (Continuación)

Lugar de recolección	Muestra	pH	Desc de la colonia	Tinción de Gram y morfología	Pruebas específicas y halos de crecimiento (cm)			IAA (ng/mL)	Cantidad de bacterias en el biofertilizante (UFC/mL)
					P1	P2	P3		
San Pedro Sacatepéquez	LPV-24-1531	4.14	Colonia circular, borde entero, textura lisa y opaca	Cocos -	-	+(0.5)	-	10.536	6.9×10^9
	LPV-24-1532 1	3.80	Colonia circular, borde ondulado, textura lisa y brillante	Bacilos +	-	+(2.1)	-	10.327	7.9×10^9
	LPV-24-1532 2		Colonia irregular, borde lobulado	Bacilos +	-	-(0.2)	-	9.865	8.0×10^{10}
	LPV-24-1533	4.10	Colonia irregular, borde entero	Cocos -	+(0.7)	+(0.7)	-	8.098	9.5×10^{10}
San Marcos	LPV-24-1629	5.02	Colonia irregular borde entero, brillante, lisa	Bacilos +	-	-	-	0	7.7×10^9
	LPV-24-1630 1	4.67	Colonia circular, borde entero, opaca y verde	Bacilos -	-	+(0.8)	-	7.967	8.3×10^9
	LPV-24-1630 2		Colonia con borde entero, brillante y plana	Bacilos -	-	+(0.9)	-	9.253	7.9×10^9
	LPV-24-1631	4.91	Colonia irregular, borde entero, opaca	Bacilos +	-	-	-	3.098	6.3×10^9

P1: Solubilización de calcio

P2: Solubilización de fosfatos

P3: Fijación de nitrógeno

P4: Producción de fitohormonas

El cuadro 3 presenta los resultados de la caracterización e identificación molecular (16S) de las bacterias aisladas de muestras de biofertilizantes recolectados en distintas biofábricas. En total, se analizaron 16 biofertilizantes, y de cada uno se aisló 1 bacteria a excepción de las muestras LPV-24-1530 y LPV-24-1532 y LPV-24-1630 donde se aislaron 2 bacterias. Cada biofertilizante muestra variaciones en la diversidad bacteriana, información con la cual se realizó el cepario y la comparación de la composición microbiológica.

Cuadro 3: Identificación de bacterias aisladas de muestras de biofertilizantes en biofábricas

Lugar de recolección	Biofertilizante	Número de bacterias aisladas	Caracterización 16S	Valor E	% Cobertura	% identidad
San Juan Comalapa	Bio Calcio	1	<i>Bacillus pumilus</i>	0	97	99.96
	Bio Bórax	1	<i>Bacillus altitudinis</i>	0	91	97.70
	Bio Magnesio I	1	<i>Glycomyces dulcitolivorans</i>	0	97	95.98
	Bio Magnesio II	1	<i>Pseudomonas juntendi</i>	0	91	94.87
	Ácidos húmicos	1	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0	93	95.34
	Bio multimineral	1	<i>Nocardiosis quinghaiensis</i>	0	97	97.98
	Bio Silicio	1	<i>Bacillus aerius</i>	0	98	99.05
	Bio Potasio	1	<i>Bacillus siamensis</i>	0	99	98.98
San Marcos	LPV-24-1530-1	2	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>	0	98	99.31
	LPV-24-1530-2		<i>Lysinibacillus capsici</i>	0	98	98.94
San Pedro Sacatepéquez	LPV-24-1531	1	<i>Bacillus alkalisoli</i>	0	98	98.60
	LPV-24-1532-1	2	<i>Bacillus pacificus</i>	0	97	92.98
	LPV-24-1532-2		<i>Paenibacillus lautus</i>	0	99	98.98
	LPV-24-1533	1	<i>Lysinibacillus macroides</i>	0	97	98.52
San Marcos	LPV-24-1629	1	<i>Citrobacter youngae</i>	0	99	99.34
	LPV-24-1630-1	2	<i>Pseudoroseomonas rhizosphaerae</i>	0	98	99.34
	LPV-24-1630-2		<i>Pseudomonas paraeruginosa</i>	0	99	98.32
	LPV-24-1631	1	<i>Bacillus aerius</i>	0	98	99.91

Las imágenes 4 y 5 muestran el resultado positivo de la prueba de solubilización de fosfato y calcio en bacterias aisladas de biofertilizantes. En estas imágenes se observa un halo claro alrededor de las colonias bacterianas, indicando su capacidad para solubilizar fosfato y calcio en el medio de cultivo específico, para calcio fue Pikovskaya y para fosfato NBRIP. Este halo es un indicador visual de la actividad solubilizadora, sugiriendo el potencial de estas cepas para movilizar nutrientes en el suelo y mejorar su disponibilidad para las plantas. Además, se llevó a cabo la prueba de producción de ácido indolacético (IAA), en la cual se observó una actividad positiva en algunas cepas, indicando su capacidad para producir fitohormonas y promover el crecimiento vegetal. El resto de las pruebas bioquímicas y morfológicas realizadas para caracterizar las bacterias se presentan en los anexos, donde se muestran en detalle los resultados complementarios.



FIGURA 4: RESULTADO POSITIVO PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS



FIGURA 5: RESULTADO POSITIVO PARA LA PRUEBA DE SOLUBILIZACIÓN DE CALCIO

IX. Discusión

Los análisis realizados proporcionan información clave sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de los biofertilizantes evaluados, incluyendo el pH, la concentración bacteriana, y las características de las bacterias aisladas, lo cual permite evaluar su potencial para promover el crecimiento vegetal y mejorar la calidad del suelo.

El recuento bacteriano en los biofertilizantes es un factor importante para determinar su efectividad, ya que una alta concentración de microorganismos puede mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo y favorecer el crecimiento de las plantas (Bionatura, 2016). Se suele considerar que un biofertilizante debe tener un mínimo de 10^6 a 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo o mililitro de producto (Vatsyayan, 2013). En este caso, los valores obtenidos en el recuento bacteriano de cada biofertilizante se encuentran en este rango, lo que indica que hay suficientes bacterias vivas para colonizar el suelo o las raíces de las plantas y que puedan realizar sus funciones de promoción de crecimiento vegetal (Guevara et al., 2019).

Como se puede observar en el Cuadro 2, todos los biofertilizantes tienen un pH ácido entre 3.40 y 5.30. Este rango de pH no es lo mejor porque los biofertilizantes con pH inferior a 5 no presentan diversidad microbiana (Britos et al., 2022). Existen estudios en donde ha encontrado que *Rhizobium* y *Azospirillum*, dos de las bacterias más conocidas como promotoras del crecimiento vegetal tienen un pH óptimo para crecer de 6.5 y 7 respectivamente (Topre et al., 2011). También hay que tomar en cuenta que un pH muy básico superior a 9, puede causar inhibición del crecimiento en las bacterias, porque el pH elevado puede desestabilizar la membrana celular, puede generar estrés osmótico y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), dañando proteínas y ácidos nucleicos (Filipini et al., 2021). Algunos géneros como *Bacillus* y *Pseudomonas* pueden tolerar pH ácidos y alcalinos, esta es la razón por la que la mayoría de las bacterias aisladas pertenecen a estos géneros (Ramos, 2016). El rango ideal de pH para los biofertilizantes creados con microorganismos de montaña es de 6 a 8 porque existe mayor diversidad de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (Ramos, 2016).

Dado que estos biofertilizantes contienen microorganismos de montaña, se esperaba encontrar una alta diversidad microbiana. No hay un número estimado de especies que deberían de tener, pero se recomienda una diversidad microbiológica suficiente para cubrir diversas funciones de nutrición, protección y crecimiento (Dan et al., 2021). Esto podría implicar desde decenas hasta cientos de especies, dependiendo de la complejidad del biofertilizante y el ecosistema del que provengan (Hernández et al., 2023). Sin embargo, no se observó diversidad microbiana, ya que al realizar las diluciones y siembras solo se detectó la presencia de un único microorganismo; a excepción de la muestra LPV-24-1530, LPV-24-1532 y LPV-24-1630 donde se aislaron 2 bacterias. Los microorganismos tienen interacciones entre ellos que pueden explicar el crecimiento de una sola bacteria. Estas interacciones pueden ser por competencia de recursos en donde las bacterias compiten por nutrientes esenciales. Una bacteria competitiva pudo haber agotado los recursos del medio de cultivo o haber superado en crecimiento a otras bacterias menos adaptadas para ese ambiente (Raimi et al., 2020). Esto explicaría por qué solo una especie fue capaz de crecer en el agar. También puede ser por antagonismo ya que algunas bacterias en el biofertilizante pueden producir compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de otras especies. Es posible que una especie dominante posea mecanismos de inhibición que impidieron que otras bacterias presentes en el biofertilizante se desarrollaran en el medio (Pirttilä et al., 2021).

Estos biofertilizantes provienen de San Marcos, San Juan Comalapa y San Pedro Sacatepéquez, en estos lugares el suelo es andosol. Suponiendo que los microorganismos de montaña fueron colectados en esas mismas localidades, se puede observar una posible relación entre el tipo de suelo y el origen de los microorganismos. Un suelo andosol está desarrollado sobre materiales piroclásticos depositados por erupciones volcánicas (Mejía, 2022). Este tipo de suelos son caracterizados por tener un pH entre 4.5 y 6 (Herrera, 2024). Al tener un pH ácido también influye en la variedad de especies microbianas (Campillo et al., 2021). Este tipo de suelo se recomienda para realizar biofertilizantes a base de hongos porque favorecen su crecimiento (Mejía, 2022).

En el Cuadro 3 se encuentran los resultados de secuenciación obtenidos utilizando el programa informático BLAST. Los parámetros utilizados fue el valor E que indica la significancia de la alineación entre las secuencias. Se espera que este valor sea 0 o cercano a este porque la alineación refleja una relación biológica real (Zaru et al., 2023). El otro parámetro utilizado fue el porcentaje de identidad este es una proporción de nucleótidos o aminoácidos que son idénticos entre la secuencia de consulta y una secuencia coincidente de la base de datos. Un porcentaje de identidad alto indica una alta similitud entre las secuencias, lo que sugiere que las secuencias están más estrechamente relacionadas evolutivamente (Samal et al., 2021). El último parámetro utilizado fue el porcentaje de cobertura que indica la fracción de la longitud de la secuencia consultada con la secuencia de la base de datos. Un valor alto de porcentaje de cobertura indica que la alineación realizada es más completa (Liu et al., 2023). Con estos parámetros se puede determinar si el resultado refleja una relación biológica y no es solamente una coincidencia. En los resultados obtenidos se puede observar que el valor E para todas las muestras es 0 esto quiere decir que la alineación refleja una relación biológica y no solamente es una relación al azar. El porcentaje de cobertura tiene una variación entre el 91% y 99%, es un porcentaje que indica que a mayoría de la secuencia consultada se alinea con la secuencia de la base de datos. Por último, el porcentaje de identidad varía entre 92% y 99%. Estos porcentajes de identidad al ser altos indican que las secuencias comparadas están conservadas, por lo que los resultados de la búsqueda BLAST son confiables y significativos desde un punto de vista biológico (Liu et al., 2023).

De los primeros biofertilizantes obtenidos de San Juan Comalapa, la mitad de las bacterias aisladas son del género *Bacillus*. La morfología y tinción de Gram coinciden con la especie. *Bacillus* es ampliamente utilizada como promotor del crecimiento vegetal por su capacidad de solubilizar fosfatos y calcio, también porque es un género que puede proliferarse en pH extremos (Rojas et al., 2020)

Se han realizado estudios en donde *Bacillus siamensis* se utilizó para mejorar el crecimiento de dos especies de trigo y se encontró que mejoró el crecimiento de las plantas, redujo el estrés oxidativo y mejoró las actividades de las enzimas antioxidantes en ambas variedades de trigo (Awan et al., 2020). También se demostró que tiene la capacidad de solubilizar fosfato, calcio y producir fitohormonas, pero en baja cantidad. En el cuadro 2 están los resultados para las pruebas bioquímicas realizadas y los resultados coinciden con lo reportado en la literatura (Rocío, 2016)

La segunda cepa aislada, identificada como *Bacillus aerius*, mostró una notable capacidad para solubilizar fosfatos y producir fitohormonas, coincidiendo con su perfil reportado en la literatura, donde se destaca por estimular el desarrollo de raíces mediante la producción de fitohormonas (Kamaruzzaman et al., 2020). Investigaciones han encontrado que esta bacteria mejora la absorción de fósforo en cultivos

de arroz, aumentando el rendimiento de las plantas en condiciones de suelos deficientes en nutrientes (Hong & Lee, 2014).

La cepa identificada como *Bacillus altitudinis* demostró una capacidad significativa para solubilizar fosfatos y calcio, lo cual es consistente con su perfil en la literatura, donde también se destaca por mejorar la disponibilidad de fósforo en el suelo y promover el crecimiento de raíces mediante la producción de sideróforos y sustancias antimicrobianas (Kushwaha et al., 2021).

La última cepa fue *B. pumilus* según los resultados obtenidos esta bacteria solubiliza fosfatos, calcio y produce fitohormonas, es una bacteria con potencial de promover el crecimiento. Se puede confirmar este dato porque actualmente es ampliamente utilizado como biofertilizante debido a su capacidad para solubilizar fosfatos y generar compuestos que promueven la resistencia a patógenos. Se ha demostrado que esta especie aumenta el crecimiento y rendimiento en plantas de lechuga y espinaca al incrementar la disponibilidad de calcio y otros nutrientes en el suelo (Dobrzyński et al., 2022).

Leclercia adecarboxylata, *Nocardiopsis quinghaiensis* y *Glycomyces dulcitolivorans*, no son bacterias catalogadas como promotoras del crecimiento vegetal, sin embargo; se han estudiado por su capacidad de degradar compuestos orgánicos y producir compuestos bioactivos que pueden mejorar la composición del suelo (Asem et al., 2020)

En San Marcos, las formulaciones de biofertilizantes contienen una combinación de bacterias lácticas y bacilos, también hay presencia de *Pseudomonas* que son conocidas por su capacidad para solubilizar nutrientes y mejorar la biodisponibilidad de elementos esenciales para las plantas (Singh et al., 2022).

Lentilactobacillus buchneri es una bacteria que pertenece al género *Lentilactobacillus*, conocido por su capacidad de producir ácido láctico. Aunque no es un promotor directo del crecimiento vegetal, se ha sugerido que los lácteos y ácidos orgánicos pueden tener efectos beneficiosos sobre la salud del suelo, al mejorar la solubilización de nutrientes y reducir patógenos (Silva et al., 2024). Sin embargo, no se considera una bacteria principal en la promoción del crecimiento vegetal.

Lysinibacillus capsici es conocida por su capacidad para producir compuestos antimicrobianos, los cuales pueden actuar como agentes de control biológico. Además, se ha reportado que *Lysinibacillus spp.* promueve el crecimiento vegetal al producir ácido indolacético (IAA) (Pantoja et al., 2023), se puede confirmar que esta cepa si produce IAA en los resultados del cuadro 2.

Pseudoroseomonas rhizosphaerae y *Pseudomonas paraeruginosa* son bacterias con propiedades de biocontrol, ayudando a prevenir enfermedades en las plantas y mejorar la asimilación de nutrientes (Rudra et al., 2022). Ambas bacterias son capaces de solubilizar fosfatos por lo que si presentan una característica de promover el crecimiento vegetal. *Pseudoroseomonas rhizosphaerae* es una nueva bacteria que se acaba de ser catalogada como promotora del crecimiento y tiene un uso potencial en la fitorremediación (Navarro et al., 2020)

En la zona de San Pedro Sacatepéquez, los biofertilizantes contienen una mezcla de bacilos. *Bacillus alkalisoli*, *Bacillus pacificus* y *Paenibacillus lautus* son bacterias que promueven la solubilización de fosfatos y otros minerales, ayudando a mejorar la salud y el crecimiento de las plantas en suelos con deficiencias (Tsoetsi et al., 2022).

En el área de San Marcos se aisló *Citrobacter youngae* es un patógeno oportunista del ser humano y se han asociado a una serie de infecciones, como infecciones del tracto urinario (ITU), gastroenteritis, infecciones de heridas, neumonía, abscesos cerebrales, septicemia, meningitis y endocarditis, sobre todo en neonatos y huéspedes inmunodeprimidos. Está presente en el biofertilizante porque esta bacteria está presente en todos los hábitats y es común encontrarla en el tracto intestinal de diversos animales (Kumar et al., 2017).

Las bacterias aisladas de los tres lugares de recolección tienen potencial para promover el crecimiento vegetal. El género *Bacillus* y *Pseudomonas* predominan lo cual es favorecedor dada las propiedades documentadas de solubilizar nutrientes y producir fitohormonas (Tsotetsi et al., 2022).

X. Conclusiones

El análisis de biofertilizantes desarrollados por fermentadores artesanales permitió identificar bacterias promotoras del crecimiento vegetal, destacando una composición microbiológica con potencial para mejorar la salud del suelo y promover el crecimiento de las plantas.

Las pruebas bioquímicas revelaron la presencia predominante de bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, conocidos por su capacidad para solubilizar fosfatos, producir fitohormonas y resistir condiciones adversas de pH. Además, se identificaron cepas con propiedades únicas que favorecen el crecimiento vegetal.

Se generó un cepario que incluye bacterias como *Bacillus siamensis*, *B. aerius*, *Pseudoroseomonas rhizosphaerae*, y otras especies con habilidades destacadas para la solubilización de nutrientes, producción de fitohormonas y biocontrol, confirmadas por análisis bioquímicos y secuenciación.

Las formulaciones de San Juan Comalapa y San Marcos mostraron mayor diversidad bacteriana, con la presencia de bacterias lácticas, *Bacillus* y *Pseudomonas*, en comparación con San Pedro Sacatepéquez, donde predominaron los *Bacillus*.

XI. Recomendaciones

Se recomienda ajustar el pH de los biofertilizantes a un rango óptimo entre 6 y 8 para favorecer una mayor diversidad microbiana y la actividad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, como *Rhizobium* y *Azospirillum*. Este rango también evita efectos adversos sobre las bacterias debido a condiciones de pH extremo. También se podría aprovechar las características del suelo andosol de los lugares de origen para diseñar biofertilizantes a base de hongos, ya que este tipo de suelo favorece su crecimiento y puede complementar la acción de las bacterias.

Realizar una evaluación la efectividad de los biofertilizantes en los cultivos para medir su impacto en la salud del suelo, el crecimiento vegetal y el rendimiento de los cultivos, ajustando las formulaciones según los resultados obtenidos.

XII. Bibliografía

- Aguado-Santacruz, Gerardo A., Moreno-Gómez, Blanca, Jiménez-Francisco, Betzaida, García-Moya, Edmundo, & Preciado-Ortiz, Ricardo E.. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 9-21. Recuperado en 10 de abril de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004&lng=es&tlng=es.
- AGRO-INNOVA inauguró biofábrica para ADIPAZ y continua con el escalamiento de la elaboración de los SAFM. (s. f.). IICA.INT. <https://iica.int/es/prensa/noticias/agro-innova-inauguro-biofabrica-para-adipaz-y-continua-con-el-escalamiento-de-la>
- Asem, M. D., Salam, N., Idris, H., Zhang, X. T., Bull, A. T., Li, W. J., & Goodfellow, M. (2020). *Nocardiosis deserti* sp. nov., isolated from a high altitude Atacama Desert soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(5), 3210-3218.
- ASOBAGRI. (2021b, agosto 26). Biofábricas -. <https://asobagri.com.gt/biofabricas/>
- Biofabrica - ASPROC. (2019). https://www.asprocgt.org/#biofabrica_info
- Awan, S. A., Ilyas, N., Khan, I., Raza, M. A., Rehman, A. U., Rizwan, M., Rastogi, A., Tariq, R., & Brestic, M. (2020). *Bacillus siamensis* Reduces Cadmium Accumulation and Improves Growth and Antioxidant Defense System in Two Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties. *Plants*, 9(7), 878. <https://doi.org/10.3390/plants9070878>
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140.
- Bautista-Cruz, A., & Martínez-Gallegos, V. (2020). Promoción del crecimiento de *Agave potatorum* Zucc. por bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. *Terra latinoamericana*, 38(3), 555-567.
- Beretta, A., Bassahum, D., & Musselli, R. (2014). ¿ Medir el pH del suelo en la mezcla suelo: agua en reposo o agitando?. *Agrociencia (Uruguay)*, 18(2), 90-94.
- Bionatura. (2016). *Bionatura*. <https://doi.org/10.21931/rb>
- Britos, A., Alonso, N., & Álvarez, R. (2022). Fertilización química con corrección de pH en suelos ácidos y rendimiento por hectárea de *Brachiaria brizantha*. *Revista veterinaria*, 33(2), 130-135.
- Castro-Barquero, L., Murillo-Roos, M., Uribe-Lorío, L. y Mata-Chinchilla, R. (2015). Inoculación al suelo con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y Microorganismos de Montaña (MM) y su efecto sobre un sistema de 17 rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. *Agronomía Costarricense* 39(3), 21-36.
- Chatzi, A., & Doody, O. (2023). The one-way ANOVA test explained. *Nurse researcher*, 31(4).

- Campillo-Cora, C., Alonso-Vega, F., Nóvoa-Muñoz, J. C., & Fernández-Calviño, D. (2021). Bacterial growth estimation in soils with different pH: optimization of incubation time.
- Dan, E., Shaibu, S., Ofon, U., Essien, J., & Fatunla, O. (2021). Microbial Diversity of Nigerian Sludge and Its Potential for Use as Biofertilizer. *Biotechnology Journal International*, 25(1), 14-22.
- da Silva, É. B., Polukis, S. A., Smith, M. L., Voshell, R. S., Leggett, M. J., Jones, P. B., & Kung Jr, L. (2024). The use of *Lentilactobacillus buchneri* PJB1 and *Lactiplantibacillus plantarum* MTD1 on the ensiling of whole-plant corn silage, snaplage, and high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, 107(2), 883-901.
- Dobrzyński, J., Jakubowska, Z., & Dybek, B. (2022). Potential of *Bacillus pumilus* to directly promote plant growth. *Frontiers in microbiology*, 13, 1069053.
- Doroteo Aguilar, G. (2018). Elaboración de un biofertilizante orgánico.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579-590.
- Filipini, L. D., Pilatti, F. K., Meyer, E., Ventura, B. S., Lourenzi, C. R., & Lovato, P. E. (2021). Application of *Azospirillum* on seeds and leaves, associated with *Rhizobium* inoculation, increases growth and yield of common bean. *Archives of Microbiology*, 203, 1033-1038.
- Fundebase, C. (2022, septiembre 16). Biofábrica, una apuesta comunitaria para mejorar la producción a través del uso responsable de los bienes naturales. Fundebase. <https://fundebase.org/biofabrica-una-apuesta-comunitaria-para-mejorar-la-produccion-a-traves-del-uso-responsable-de-los-bienes-naturales/>
- García Villacres, I. N. (2023). Importancia de los microbiomas del suelo en la producción agrícola sostenible de solanáceas (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2023).
- Gobierno de México. (2019). Biofertilizantes. <https://www.gob.mx/profec/articulos/biofertilizantes?idiom=es#:~:text=VENTAJAS%20DEL%20USO%20DE%20BIOFERTILIZANTES&text=Consumen%20menos%20energ%C3%ADa%20para%20su,la%20capacidad%20de%20absorber%20agua.>
- Guevara, J. M. L., Ramírez, K. J. E., Arita, E. M., & Romero, E. A. Caracterización microbiológica de biofertilizantes inoculados con microorganismos de montaña en el departamento de Copán Honduras.
- Gutiérrez-Jiménez, J., Luna-Cazás, L. M., Mendoza-Orozco, M. I., Díaz-Marina, G. D. J., Burguete-Gutiérrez, J. C., & Feliciano-Guzmán, J. M. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), México. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(2), 95-102

- Hakeem, K. R., Dar, G. H., Mehmood, M. A., & Bhat, R. A. (2021). *Microbiota and Biofertilizers*. Springer.
- Hernández-Álvarez, C., Peimbert, M., Rodríguez-Martin, P., Trejo-Aguilar, D., & Alcaraz, L. D. (2023). A study of microbial diversity in a biofertilizer consortium. *Plos one*, 18(8), e0286285.
- Herrera Oyola, R. M. (2024). *Influencia del pH del suelo en la multiplicación de las micorrizas* (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2024).
- Hong, S. H., & Lee, E. Y. (2014). Vegetation restoration and prevention of coastal sand dunes erosion using ion exchange resins and the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus* sp. SH1RP8 isolated from indigenous plants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 262-269.
- Infante, Z. Ortega, P. Coutiño E. (2020). Las Biofábricas y su relación con el desarrollo sostenible en Michoacán, México.
- Jangid, M.K., Khan, I.M., Singh, S., 2012. Constraints faced by the organic and conventional farmers in adoption of organic farming practices. *Indian Res. J. Ext. Educ.* 2, 28–32. Spec. Issue II.
- Kavamura, V. N., Mendes, R., Bargaz, A., & Mauchline, T. H. (2021). Defining the wheat microbiome: Towards microbiome-facilitated crop production. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 1200-1213.
- Kamaruzzaman, M. A., Abdullah, S. R. S., Hasan, H. A., Hassan, M., Othman, A. R., & Idris, M. (2020). Characterisation of Pb-resistant plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from *Scirpus grossus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101456.
- Kour, D., Rana, K. L., Yadav, A. N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., ... & Saxena, A. K. (2020). Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101487.
- Kushwaha, P., Srivastava, R., Pandiyan, K., Singh, A., Chakdar, H., Kashyap, P. L., ... & Saxena, A. K. (2021). Enhancement in plant growth and zinc biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by *Bacillus altitudinis*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 922-935.
- Kumar, A., Maurya, B. R., & Raghuwanshi, R. (2017). Isolation and characterization of microorganisms capable of utilizing phosphate solubilization and plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1357. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01357>
- LA HUERTA DEL PROFE - CIELO VERDE. (2021, 23 octubre). *COMO PREPARAR y APLICAR UN BIOL - BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO CASERO: NUTRICIÓN EFECTIVA PARA EL SUELO* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=c6NvVUpPTic>
- Liu, Y., Shen, X., Gong, Y., Liu, Y., Song, B., & Zeng, X. (2023). Sequence Alignment/Map format: a comprehensive review of approaches and applications. *Briefings in Bioinformatics*, 24(5), bbad320.

- Maçik, M., Gryta, A., Sas-Paszt, L., & Fraç, M. (2020). The status of soil microbiome as affected by the application of phosphorus biofertilizer: Fertilizer enriched with beneficial bacterial strains. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8003.
- Martínez Gandía, A. (2024). Proyecto de almacenamiento de productos químicos para una empresa que fabrica fertilizantes nitrogenados en la localidad de Ribarroja del Turia (Valencia) (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Medina Morales, P., González Monterrubio, C., & Morales Ibarra, M. (2021). Uso de biofertilizantes para una producción más rentable y sustentable de caña de azúcar en México, *Biofábrica Siglo XX*.
- Mejía Edelman, J. D. (2022). Mejoramiento de la capacidad soporte y reducción de asentamientos en suelos blandos utilizando geomallas multidireccionales con arenas limosas provenientes de la ciudad de Guatemala (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala).
- Mitter, E. K., Tosi, M., Obregón, D., Dunfield, K. E., & Germida, J. J. (2021). Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: innovative biofertilizer technologies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 606815.
- Mishra, D.J., Singh, R., Mishra, U.K., Kumar, S.S., (2013). Role of bio-fertilizer in organic agriculture: a review. *Res. J. Recent Sci.* 2, 39–41. <https://doi.org/10.1039/C3PP50325A>.
- Mushtaq, Z., Faizan, S., & Hussain, A. (2021). Role of microorganisms as biofertilizers. *Microbiota and Biofertilizers: A Sustainable Continuum for Plant and Soil Health*, 83-98.
- Namasivayam, S.K.R., Saikia, S.L., Bharani, R.S.A., (2014). Evaluation of persistence and plant growth promoting effect of bioencapsulated formulation of suitable bacterial biofertilizers. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia* 11, 407–415. <https://doi.org/10.13005/bbra/1289>.
- Navarro-Torre, Salvadora & Carro, Lorena & Rodriguez-Llorente, Ignacio & Pajuelo, Eloisa & Caviedes, Miguel & Igual, José & Klenk, Hans-Peter & Montero-Calasanz, Maria del Carmen. (2020). *Pseudoalteromonas rhizosphaerae* sp. nov., a novel plant growth-promoting bacterium with potential use in phytoremediation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70. 10.1099/ijsem.0.004167.
- Pantoja-Guerra, M., Burkett-Cadena, M., Cadena, J., Dunlap, C. A., & Ramírez, C. A. (2023). *Lysinibacillus* spp.: An IAA-producing endospore-forming bacteria that promotes plant growth. *Antonie van Leeuwenhoek*, 116(615–630). <https://doi.org/10.1007/s10482-023-01828-x>
- Paguay Morejón, L., & Vasco Calvache, E. A. (2013). *Aislamiento de bacterias solubilizadoras de calcio de la rizósfera de cultivos de alcachofa (cynara scolymus) ubicados en Laso-Latacunga-Cotopaxi* (Bachelor's thesis).

- Pedraza, R. O., Bonilla, G. A. E., & Buitrago, R. R. B. Los biofertilizantes y su relación con la sostenibilidad agrícola.
- Pezoa Maldonado, M. I. (2021). Microorganismos solubilizadores de fosfato y mineralizadores de fósforo asociados a líquenes Peltigera del Parque Nacional Patagonia.
- Pérez, R. (s. f.). *Entregan biofábricas y paquetes agrícolas*. <https://dca.gob.gt/noticias-guatemala-diario-centro-america/entregan-biofabricas-y-paquetes-agricolas/>
- Pérez-Cordero, A., Tuberquia-Sierra, A., & Amell-Jímenez, D. (2014). Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agronomía Mesoamericana*, 213-223. <https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15425>
- Pirttilä, A. M., Mohammad Parast Tabas, H., Baruah, N., & Koskimäki, J. J. (2021). Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: How to identify and develop new potent microbial strains and traits. *Microorganisms*, 9(4), 817.
- Raimi, A., Roopnarain, A., Chirima, G. J., & Adeleke, R. (2020). Insights into the microbial composition and potential efficiency of selected commercial biofertilisers. *Heliyon*, 6(7).
- Ramos Flores, L. M. (2016). *Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés, Zamorano, Honduras* (Proyecto especial de graduación). Universidad Zamorano.
- Ramos Salaza, R. A., Mendoza Villarreal, R., Robledo Torres, V., & Hernández Pérez, A. (2022). Efecto de rizobacterias solubilizadoras de calcio en caracteres agronómicos y minerales de *Tagetes erecta*. *Biotechnia*, 24(2), 149-154.
- Rocío, R. V. E. (2016). *Diversidad microbiana en la rizósfera de papas nativas amargas cultivadas en el altiplano puneño y su capacidad promotora de crecimiento vegetal*. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/2789>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocajull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez-Sánchez, J. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54-60.
- Rudra, B., Duncan, L., Shah, A. J., Shah, H. N., & Gupta, R. S. (2022). Phylogenomic and comparative genomic studies robustly demarcate two distinct clades of *Pseudomonas aeruginosa* strains: proposal to transfer the strains from an outlier clade to a novel species *Pseudomonas paraeruginosa* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(11), 005542.
- Samal, K. C., Sahoo, J. P., Behera, L., & Dash, T. (2021). Understanding the BLAST (Basic local alignment search tool) Program and a step-by-step guide for its use in life science research. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*, 36(1), 55-61.

- Sánchez, I. A., Reyes, A. A., Manzanilla, E. L. H., Gallegos, J. A. A., Alberto, J., & Sánchez, M. M. (2022). Efecto de la biofertilización con pimienta fermentado por *Aspergillus niger* sobre plantas de frijol común. *Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*, 79(597), 494-499.
- Singh, P., Singh, R. K., Zhou, Y., Wang, J., Jiang, Y., Shen, N., ... & Jiang, M. (2022). Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), 220-238.
- Sokol, N. W., Slessarev, E., Marschmann, G. L., Nicolas, A., Blazewicz, S. J., Brodie, E. L., ... & Pett-Ridge, J. (2022). Life and death in the soil microbiome: how ecological processes influence biogeochemistry. *Nature Reviews Microbiology*, 20(7), 415-430.
- Sun, B. O., Gu, L., Bao, L., Zhang, S., Wei, Y., Bai, Z., ... & Zhuang, X. (2020). Application of biofertilizer containing *Bacillus subtilis* reduced the nitrogen loss in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107911.
- Tariq, M., Jameel, F., Ijaz, U., Abdullah, M., & Rashid, K. (2022). Biofertilizer microorganisms accompanying pathogenic attributes: a potential threat. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(1), 77-90.
- Trivedi, P., Mattupalli, C., Eversole, K., & Leach, J. E. (2021). Enabling sustainable agriculture through understanding and enhancement of microbiomes. *New Phytologist*, 230(6), 2129-2147.
- Torres Gallo, N. A., Otero Meza, D. D., Salcedo Mendoza, J., & Hernández Ruydiaz, J. E. (2023). Valorización de residuos orgánicos para producir biofertilizantes: revisión bibliométrica de tendencias y avances.
- Topre, S. D., Panikar, S. S., Mahajani, S. U., & Patil, S. B. (2011). Biofertilizer: A novel approach for agriculture. *Academic Journals*. Aceptado el 18 de enero de 2011.
- Tsotetsi, T., Nephali, L., Malebe, M., & Tugizimana, F. (2022). *Bacillus* for plant growth promotion and stress resilience: what have we learned?. *Plants*, 11(19), 2482.
- United Nations Department of Economic and Social Affairs. 2019. Growing at a slower pace, world population is expected to reach 9.7 billion in 2050 and could peak at nearly 11 billion around 2100. New York, NY, USA: UN DESA.
- Vargas Flores, T., & Kuno Vargas, A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 49, 2594.
- Vatsyayan, N., & Ghosh, A. K. (2013). Isolation and characterization of microbes with biofertilizer potential. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 7(4), 5-9.
- Wall, L. 2019. La ecología microbiana y la agricultura (en línea). Producciones Gráficas S.A. 2(2):1-9. Consultado 25 sep. 2023. Disponible en <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/135423>

Yapa, N., Lakmali, D., Zoysa, D., Silva, K. S., Manawadu, C., Herath, B. M., ... & Bamunuarachchige, C. (2022). Biofertilizers: An Emerging Trend in Agricultural Sustainability.

Zainuddin, N., Keni, M. F., Ibrahim, S. A. S., & Masri, M. M. M. (2022). Effect of integrated biofertilizers with chemical fertilizers on the oil palm growth and soil microbial diversity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 10223

Zaru, R., Orchard, S., & UniProt Consortium. (2023). UniProt tools: BLAST, align, peptide search, and ID mapping. *Current protocols*, 3(3), e697.

XIII. Anexos

Se realizaron 3 pruebas a cada bacteria aislada de los biofertilizantes; prueba A solubilización de fosfatos, prueba B fijación de nitrógeno y prueba C solubilización de calcio.

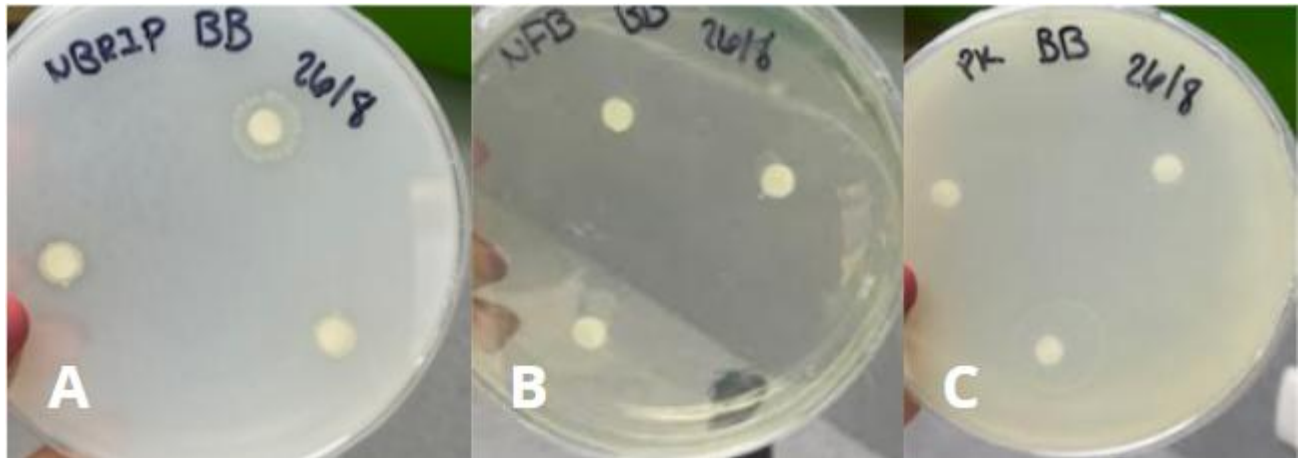


FIGURA 6: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE BIO BÓRAX

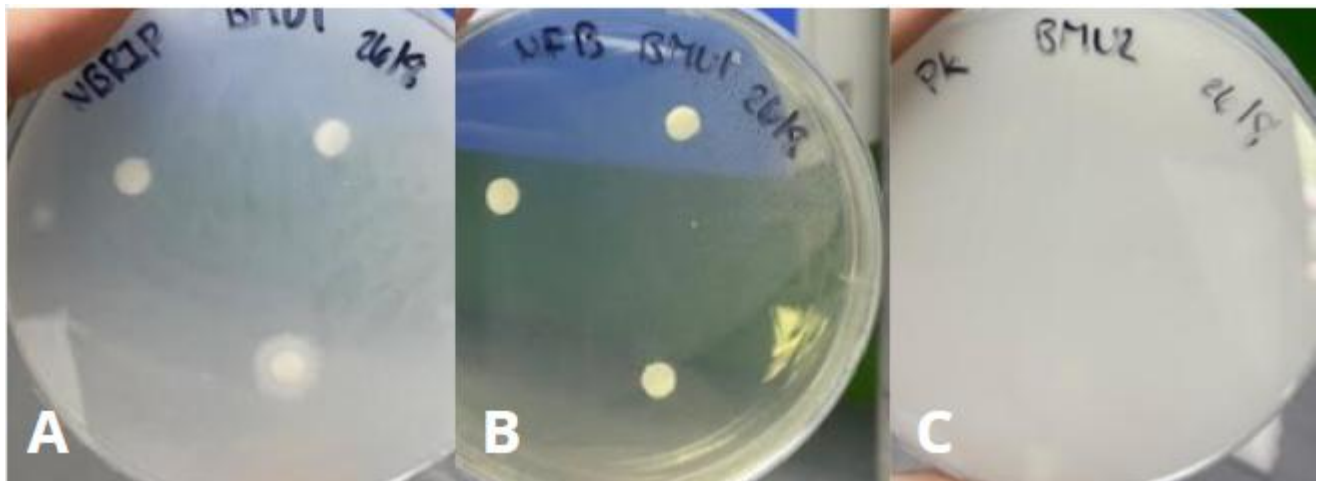


FIGURA 7: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE BIO MULTIMINERAL

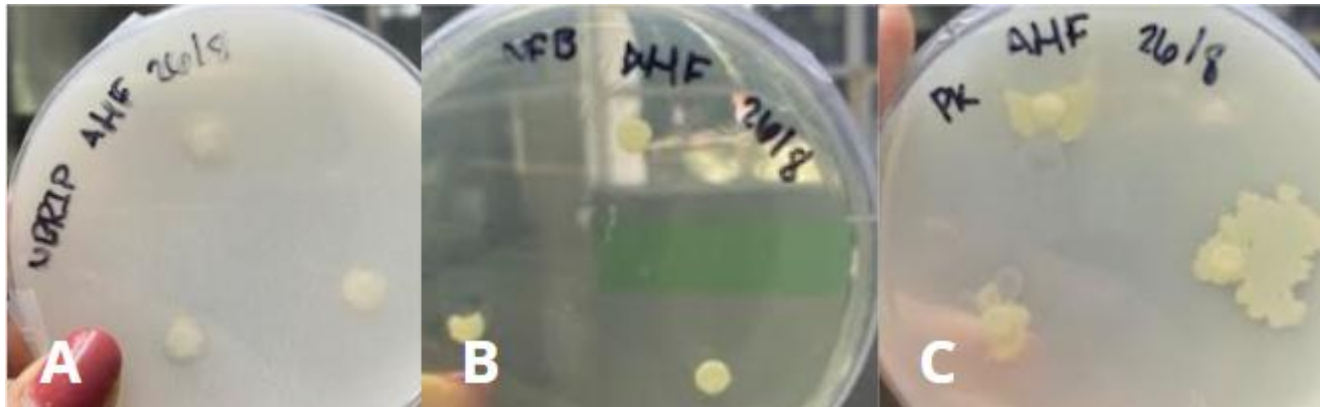


FIGURA 8: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE ÁCIDOS HÓMICOS



FIGURA 9: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE BIO MAGNESIO I

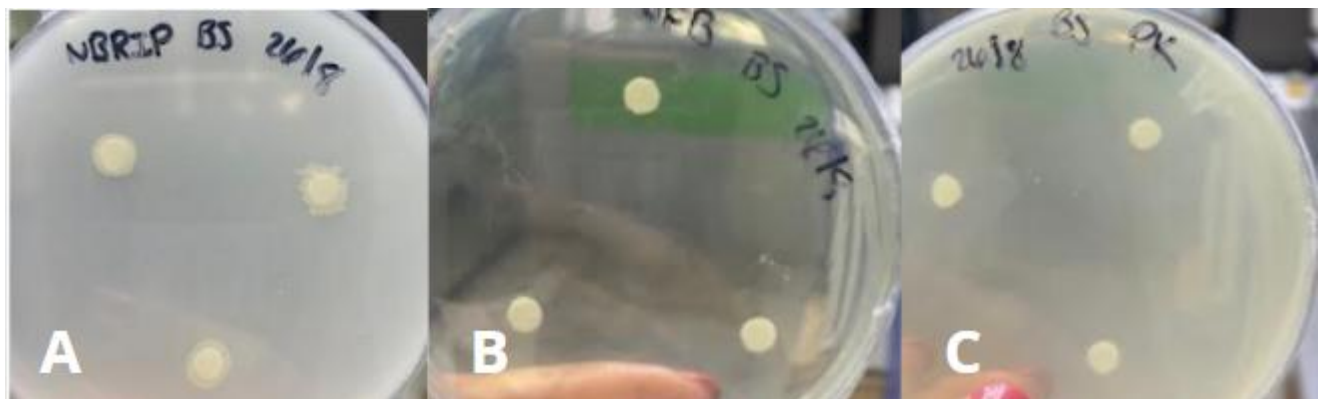


FIGURA 10: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE BIO SILICIO

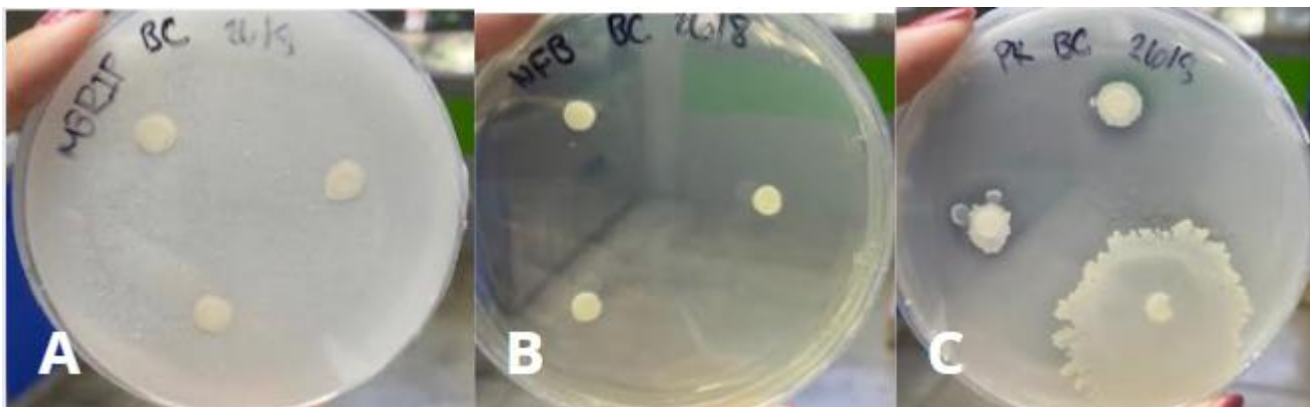


FIGURA 11: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE BIO CALCIO

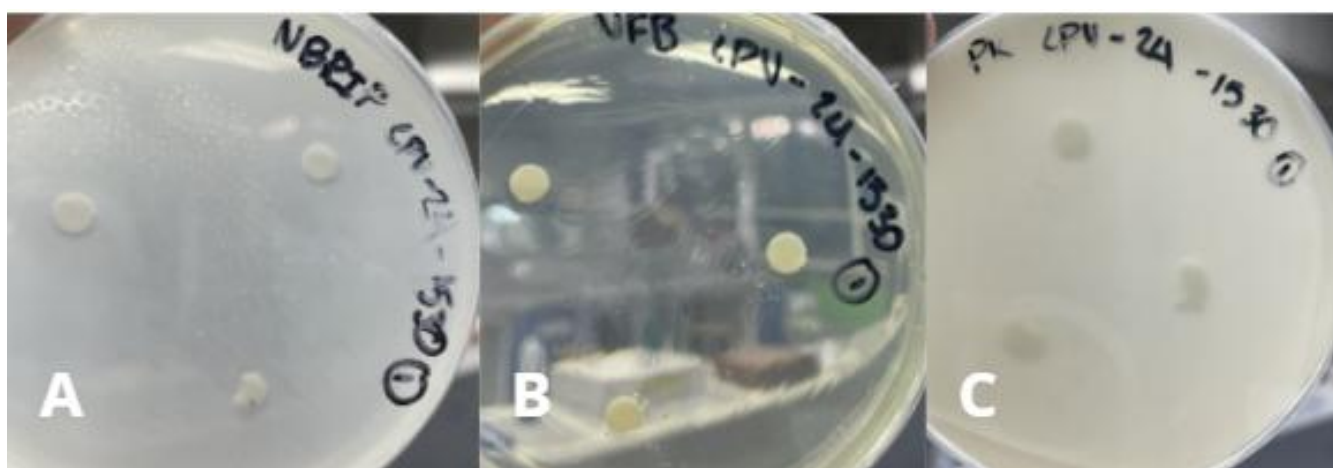


FIGURA 12: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1530-1

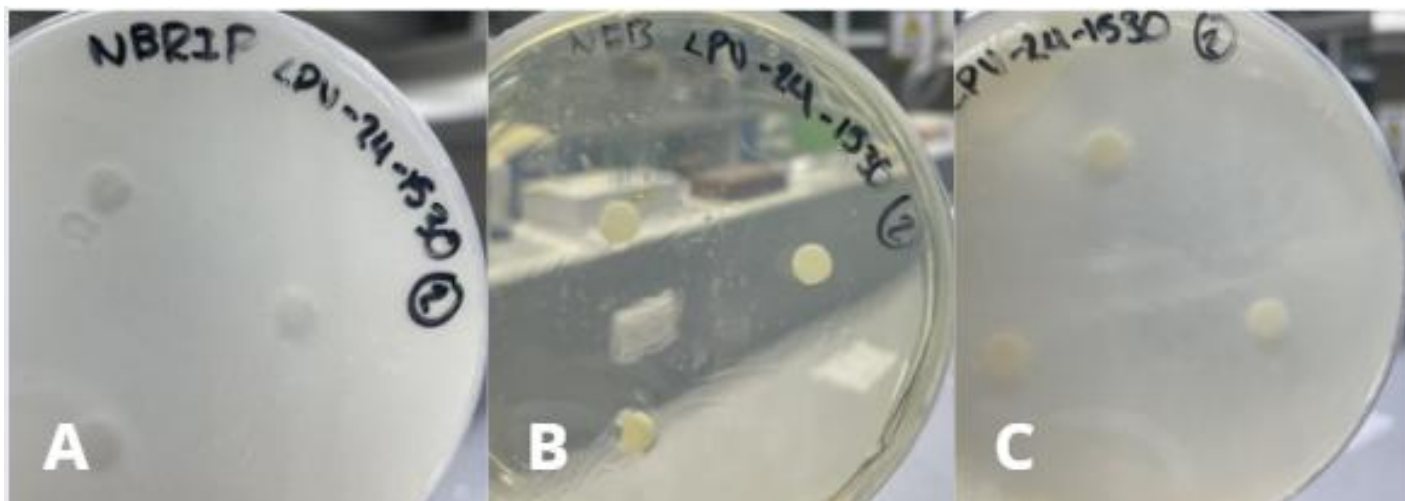


FIGURA 13: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1530-2

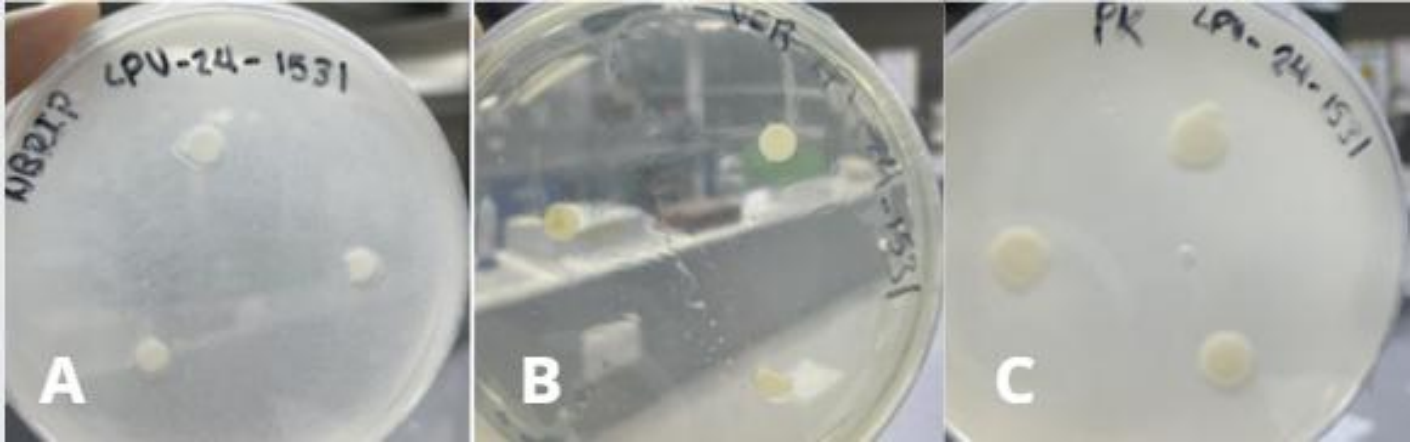


FIGURA 14: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1531

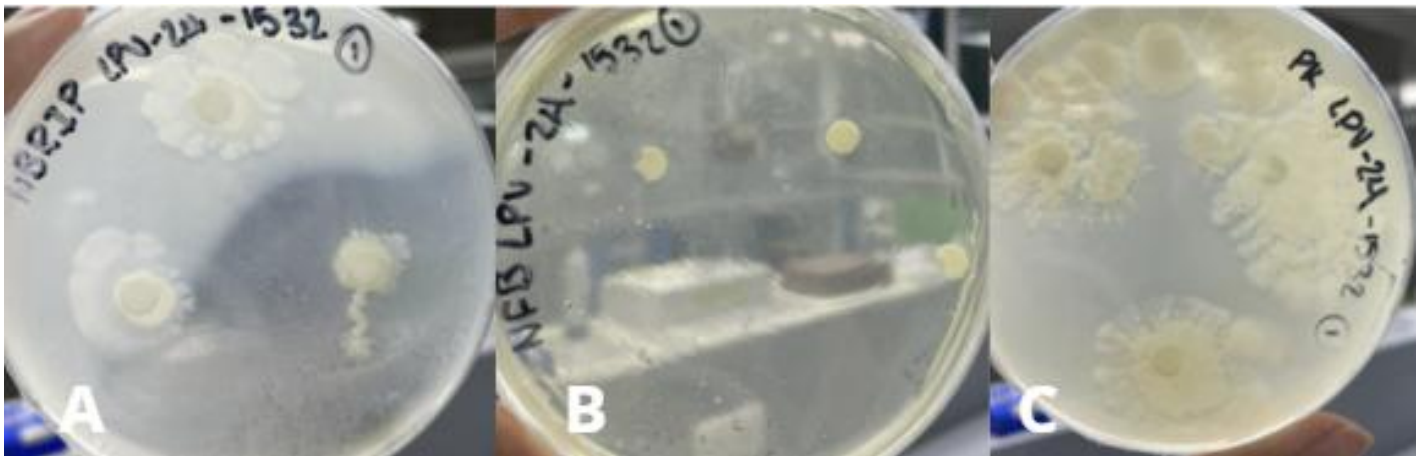


FIGURA 15: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1532-1

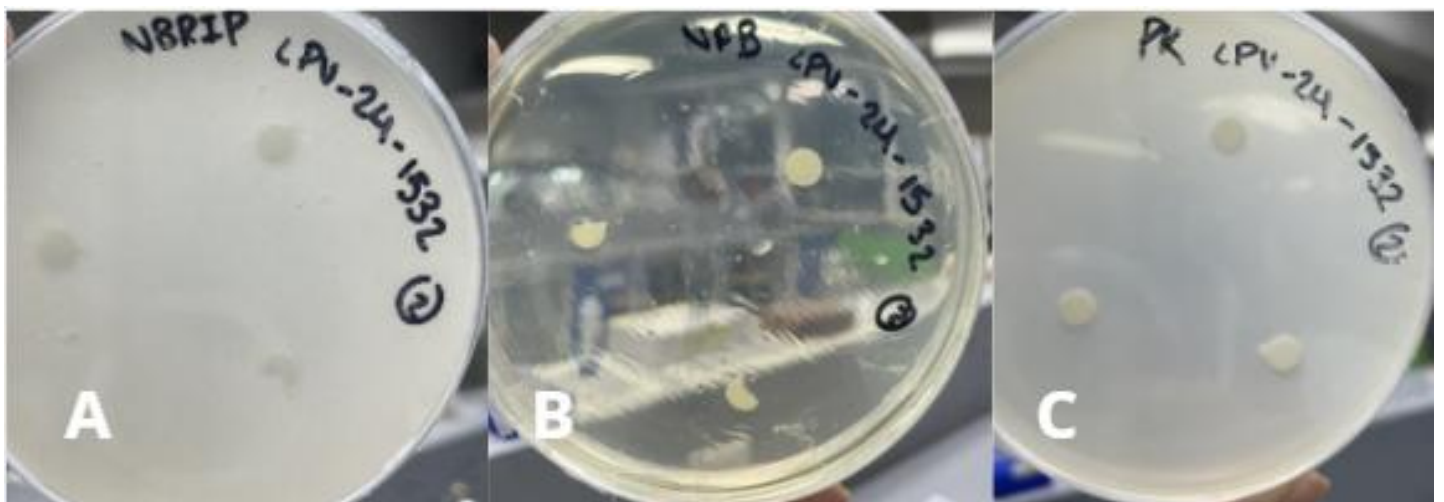


FIGURA 16: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1532-2

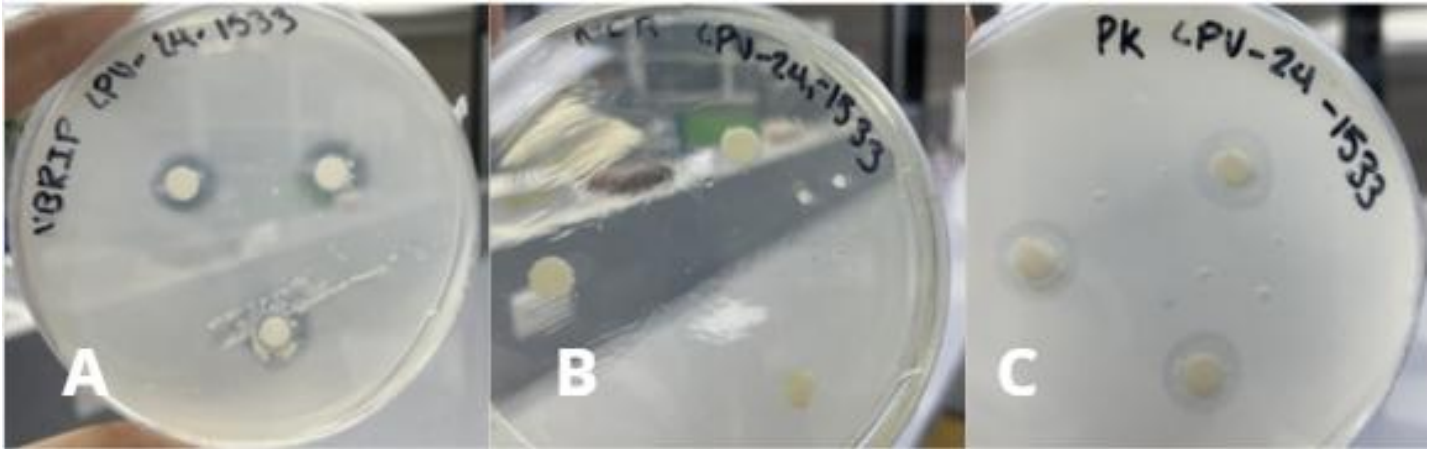


FIGURA 17: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1533

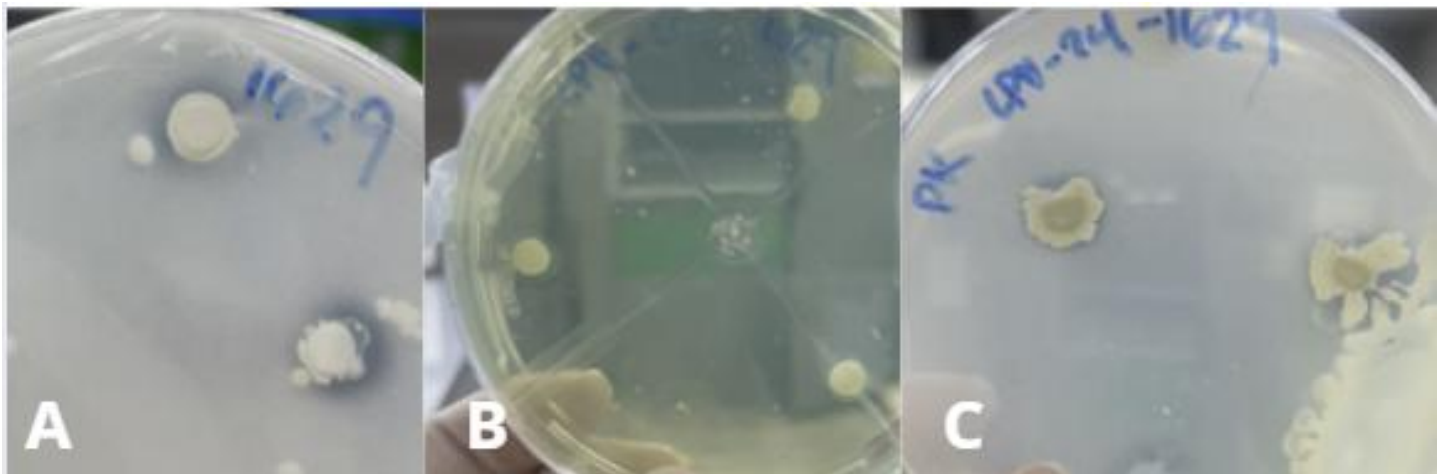


FIGURA 18: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1629

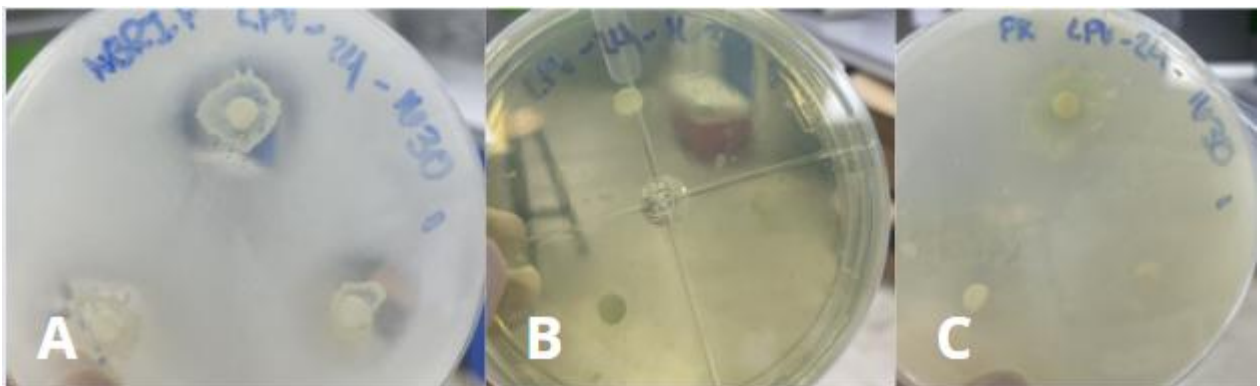


FIGURA 19: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1630-1

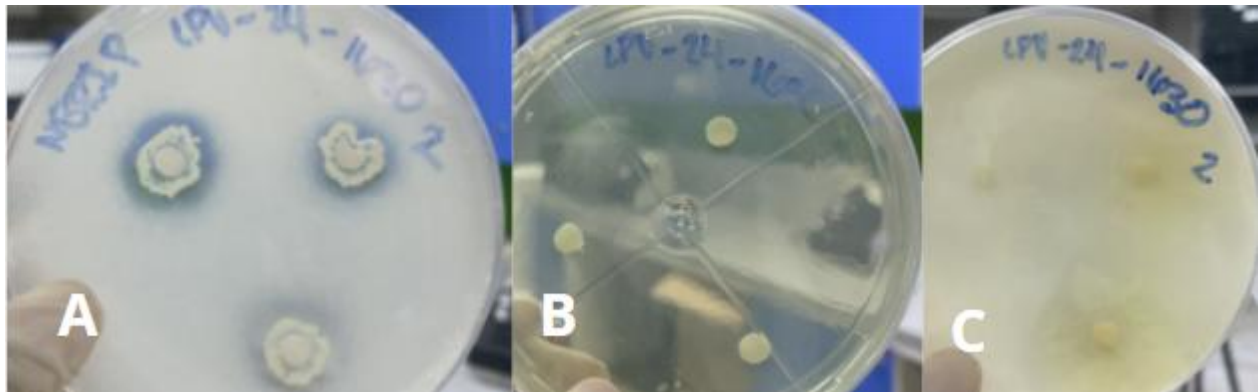


FIGURA 20: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1630-2



FIGURA 21: RESULTADOS PARA LAS 3 PRUEBAS ESPECÍFICAS PARA EL BIOFERTILIZANTE 1631

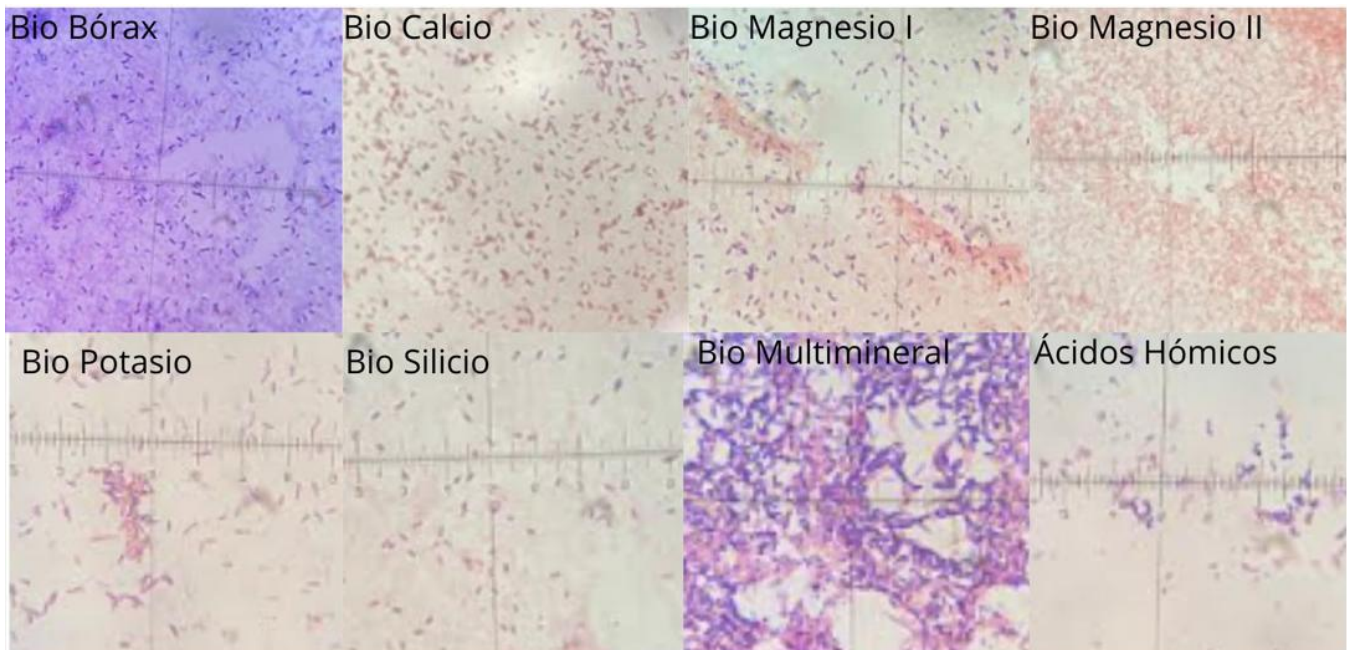


FIGURA 22: TINCIÓN DE GRAM PARA LOS 8 BIOFERTILIZANTES OBTENIDOS DE SAN JUAN COMALAPA

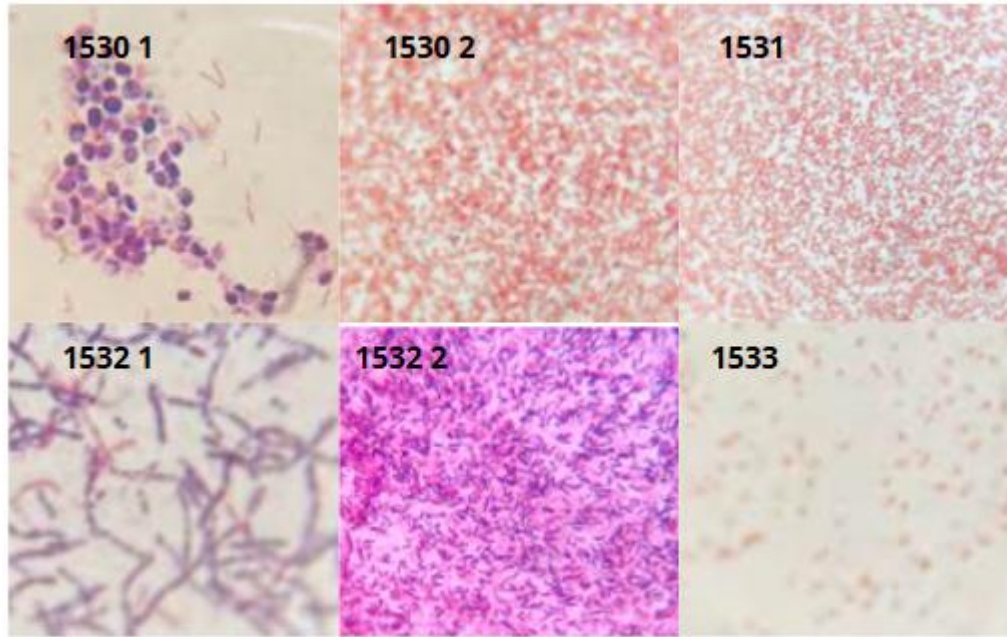


FIGURA 23: TINCIÓN DE GRAM PARA LAS BACTERIAS OBTENIDAS DE LOS 4 BIOFERTILIZANTES DE SAN MARCOS Y SAN PEDRO SACATEPÉQUEZ

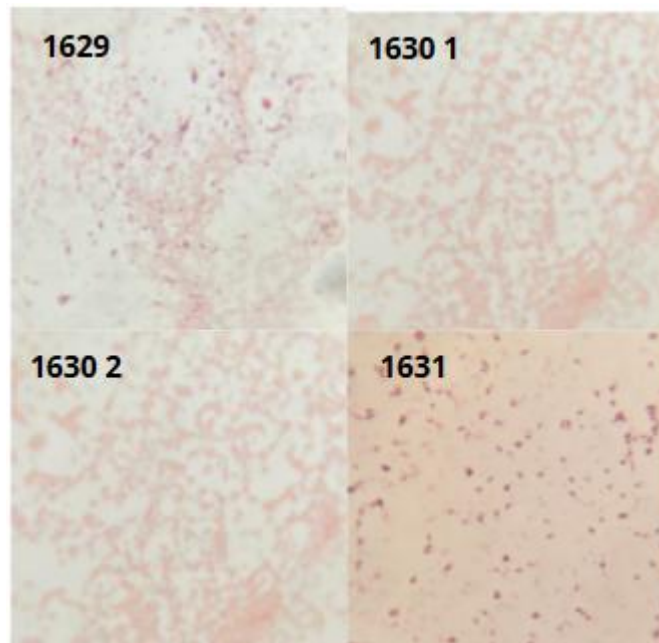


FIGURA 24: TINCIÓN DE GRAM PARA LAS BACTERIAS OBTENIDAS DE LOS 4 BIOFERTILIZANTES DE San Marcos

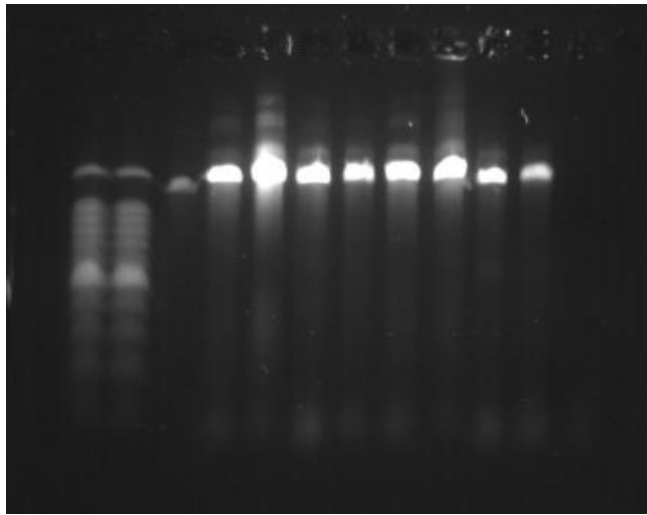


FIGURA 25: VISUALIZACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR DEL GEN 16S DE LAS BACTERIAS AISLADAS DE LOS BIOFERTILIZANTES.

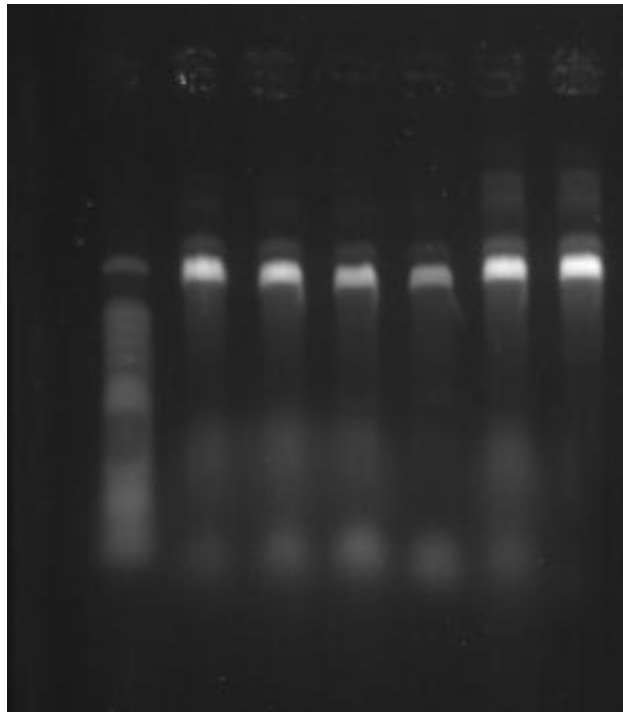


FIGURA 26: VISUALIZACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR DEL GEN 16S DE LAS BACTERIAS AISLADAS DE LOS BIOFERTILIZANTES 1530-1533.

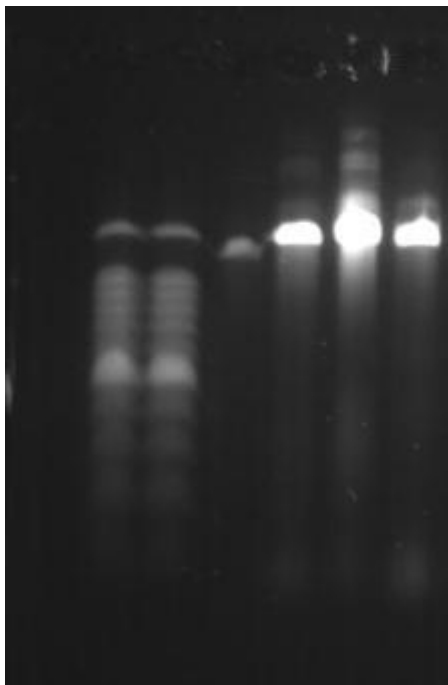


FIGURA 27: VISUALIZACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR DEL GEN 16S DE LAS BACTERIAS AISLADAS DE LOS BIOFERTILIZANTES 1530-1533.

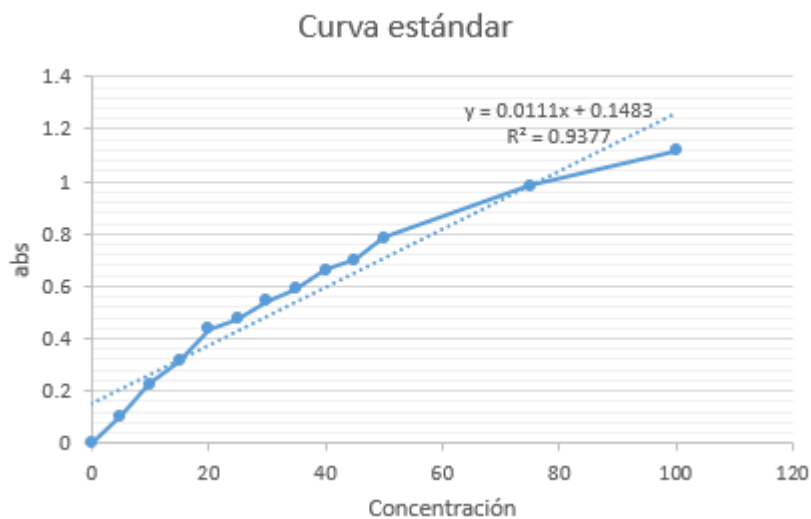


FIGURA 28: CURVA ESTÁNDAR CON REACTIVO IAA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE IAA EN LAS BACTERIAS AISLADAS

