

Aislamiento de Bacterias Nitrificantes a partir de excremento de ganado bovino de raza Holstein, para promover el uso de biofertilizantes mediante una propuesta pedagógica.

Johann Sebastián Bohórquez Caicedo

Universidad Pedagógica Nacional

Facultad de Ciencia y Tecnología

Departamento de Biología

Bogotá D.C.

2023

Aislamiento de Bacterias Nitrificantes a partir de excremento de ganado Bovino de raza Holstein, para promover el uso de biofertilizantes mediante una propuesta pedagógica.

Presentado por:

Johann Sebastián Bohórquez Caicedo

Director:

Hugo Mauricio Jiménez Melo
Microbiólogo, M. Sc.

Línea de Investigación: Biotecnología, Biodiversidad y Conservación

Universidad Pedagógica Nacional

Facultad de Ciencia y Tecnología

Departamento de Biología

Bogotá D.C

2023

Dedicatoria

A todas las personas que hicieron posible la culminación de este Trabajo de grado, su apoyo y palabras de aliento fueron fundamentales en este proceso.

A mi familia, gracias por todas las risas, las palabras apoyo y los momentos inolvidables que he pasado a su lado, gracias a sus enseñanzas me he convertido en la persona que soy hoy en día.

A mi madre, siempre serás la persona mas importante en mi vida, tu apoyo incondicional, tus palabras de aliento y tu amor, me ayudaron a convertirme en una gran persona.

A mi hermano y mi abuela, les agradezco por su cariño y dedicación, siempre han sido una fuente de motivación y alegría en mi vida.

Agradecimientos

En primera instancia deseo dar agradecimientos a Dios quien me permitió iniciar mis estudios académicos y hoy culminarlos, bajo su guía y orientación en estos cinco años, permitiéndome cada mañana obtener un nuevo logro para llegar a este fin.

Deseo manifestar mi más profundo agradecimiento a la Universidad Pedagógica Nacional por otorgarme la posibilidad de desarrollarme académicamente, A las directivas y docentes del departamento de Biología, gracias por todas sus enseñanzas y apoyo incondicional a lo largo de este proceso, sin ustedes no sería el profesional que soy hoy en día.

Mi más profundo agradecimiento a mi familia, quienes han sido mi mayor apoyo y fuente de inspiración a lo largo de mi vida y durante mi trayectoria académica, a mi madre gracias por tu amor incondicional, por creer en mí y por brindarme todas las oportunidades que han sido clave en mi desarrollo. A mi hermano, gracias por compartir conmigo los momentos de alegría, los desafíos y los logros que surgieron a lo largo de este proceso. A mi abuela que con su amor incondicional y apoyo logro formar en mí una gran persona.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutor Hugo Mauricio Jiménez, gracias por su invaluable apoyo y orientación a lo largo de este arduo proceso. Su experiencia, conocimiento y dedicación han sido fundamentales para la culminación de esta investigación.

No quiero dejar pasar la oportunidad para agradecerle a una persona que me acompañó a lo largo de estos años, Michell Duarte gracias por estar a mi lado en todo momento y por amor incondicional, te agradezco por todas las risas y momentos de felicidad, fuiste un pilar importante en todo este proceso.

Finalmente, me gustaría expresar mis más sinceros agradecimientos a mis amigos de la universidad, ustedes me acompañaron en todo momento y fueron indispensables en mi proceso de formación. Cada risa, cada abrazo y cada experiencia me demostraron que sin su apoyo no sería la persona que soy hoy en día.

Tabla de contenido

1. Introducción.....	1
2. Justificación	3
3. Marco Teórico	5
3.1 Fertilizantes.....	5
3.1.1 Fertilizantes Químicos.....	5
3.1.2 Fertilizantes orgánicos.....	6
3.1.3 Biofertilizantes:	6
3.2 Bacterias:.....	7
3.2.1 Nutrición Bacteriana	7
3.2.3 Bacterias Nitrificantes	9
3.3. Fijación Biológica del Nitrógeno.....	9
3.3.1Ciclo del Nitrógeno	10
3.4 Manuales	11
4. Antecedentes.....	12
4.1 Internacional	12
4.2 Nacionales.....	14
4.3 Locales	17
5. Planteamiento de problema.....	18
6. Objetivos	19
6.1. Objetivo General.....	20
6.2. Objetivos específicos	20
7. Metodología.....	20
7.1 Área de estudio	21
7.2 Muestreo Aleatorio Simple.	21
7.3 Aislamiento primario de bacterias nitrificantes.	23
7.4 Identificación de las bacterias nitrificantes.....	26
7.5 Bioensayos con Biofertilizantes y Fertilizantes Químicos con la planta de cilantro <i>Coriandrum sativum</i>	26
7.6 Diseño del Manual Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino.....	27
8. Resultados y Análisis.....	28

8.1 Toma de muestra en el área de estudio.	28
8.1.1 Gráfica de cantidad de ganado de la Raza Holstein y su distribución sexual.	29
8.1.2 Estadios de los organismos	30
8.1.3 Alimentación de la población de Bovinos de raza Holstein.....	31
8.2 Aislamiento primario de bacterias nitrificantes.	32
8.2.1 Medios de cultivos selectivos SWA y MCA.....	32
8.3 Conteo UFC de muestra de excremento de Ganado Bovino (EGB) en el medio de cultivo SWA.....	33
8.4 Conteo UFC de muestra de excremento de Ganado Bovino (EGB) en el medio de cultivo MCA	35
8.5 Comparación UFC medio de cultivo SWA y MCA.	37
8.6 Observación a microscopio.....	38
8.7 Bioensayo con Cilantro (<i>Coriandrum sativum</i>).....	40
8.7.1 Muestra de Bacterias Nitrificantes	41
8.7.2 Promedio crecimiento vertical tallos de cilantro.....	41
8.7.3 Peso de la biomasa del Cilantro.....	43
8.7.4 Número de hojas de bioensayo de cilantro.....	45
8.8 Metodología pedagógica.....	47
8.8.1 Diseño de la Manual: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino.....	47
8.8.2 Validación de Manual.	54
9. Conclusiones.....	61
10.Recomendaciones.....	62
11. Bibliografía.....	63

Índice de figuras

Figura 1: Clasificación de Microorganismos de acuerdo con la Fuente de Energía. Tomada de Rodríguez, M (2013).....	8
Figura 2: Reacciones que intervienen en la oxidación de compuestos nitrógeno por bacterias nitrificantes. Autor Iñon, N (s.f).....	9
Figura 3: Ciclo del nitrógeno. Autor desconocido.	11
Figura 4: Ubicación por medio de la plataforma Google Maps.	22
Figura 5: Recolección De la muestra (Esquema del Manual). Realizada por Johann Caicedo	23
Figura 6: Asilamiento primario y medios de cultivo. Tomado de manual.	26
Figura 7: Vista a microscopio (tomado de manual)	26
Figura 8: Ejemplar de la raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022)	29
Figura 9: Excremento de un ejemplar de raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022).....	29
Figura 10: Grupo de ejemplares de raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022)...	29
Figura 11: Distribución sexual de Ganado de la Raza Holstein.	30
Figura 12: Estadios de los organismos	31
Figura 13: Caja de Petri con cultivo SWA, diluido 10^{-2} tomada por Johann Bohórquez.....	33
Figura 14: Caja de Petri con cultivo SWA, diluido 10^{-3} tomada por Johann Bohórquez.....	33
Figura 15: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA.	35
Figura 17: Caja de Petri con cultivo MCA, diluido 10^{-3} tomada por Johann Bohórquez	36
Figura 18: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA.	37
Figura 19: Comparación UFC medios de cultivo SWA y MCA.....	38
Figura 20: Ilustración Bacterias nitrificantes.	39
Figura 21: Ilustración Bacterias nitrificantes.	40
Figura 22 . Comparativo Datos promedio del crecimiento vertical en centímetros de tallos de cilantro.	42
Figura 24. Comparativo Datos de número de hojas de bioensayo de cilantro.	46
Figura 25: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Portada, elaborado por Johann Caicedo (2023).....	48

Figura 26: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Introducción y objetivos, elaborado por Johann Caicedo (2023).....	49
Figura 27: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Justificación, elaborado por Johann Caicedo (2023).....	50
Figura 28: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Conceptos generales, elaborado por Johann Caicedo (2023).	51
Figura 29: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología, Elaborado por Johann Caicedo (2023).....	52
Figura 30: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología (Esquemas conceptuales), Elaborado por Johann Caicedo (2023).	53
Figura 31: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología (fase 5), Elaborado por Johann Caicedo (2023).....	53
Figura 32: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Preguntas de validación y bibliografía. Elaborado por Johann Caicedo (2023).	54
Figura 33: Validación de manual primera pregunta.	55
Figura 34: Validación de manual Segunda pregunta.....	56
Figura 35: Validación de manual Tercera pregunta.	56
Figura 36: Validación de manual Cuarta pregunta.....	57
Figura 37, Validación de manual Quinta pregunta.....	58
Figura 38: Validación de manual Sexta pregunta.....	59
Figura 39: Validación de manual Séptima pregunta.	60
Figura 40: Validación de manual Octava pregunta.	61

Índice de Tablas.

Tabla 1: Cantidad de organismos de la Raza Holstein y distribución sexual.....	29
Tabla 2: Estadios de los organismos.....	31
Tabla 3: composición de medios de cultivos selectivos.....	32
Tabla 4. Área de caja de Petri.....	33
Tabla 5: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA	34
Tabla 6: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo MCA	36
Tabla 7. Datos promedio del crecimiento vertical en centímetros de tallos de cilantro.	41
Tabla 8: Promedio de peso de biomasa de cilantro	43
Tabla 9: Datos de número de hojas de bioensayo de cilantro.	45

1. Introducción

El uso de agroquímicos en la región de América Latina y el Caribe ha incrementado el rendimiento de diversos cultivos agrícolas, aumentado la producción en un 27.1% durante los años 2006 y 2017 (Chávez, et al. 2021). Sin embargo, a pesar de los beneficios que conlleva el uso de este tipo de fertilizantes, no se justifica utilizarlos debido a los graves problemas ambientales y ecológicos que causan. Teniendo en cuenta lo anterior, el potencial de contaminación de un fertilizante químico se encuentra relacionado con su uso eficiente en el cultivo, lo que varía de acuerdo con la manera de suministrarlo y la tecnología necesaria para su producción, esto impacta directamente en la actividad agrícola generando elevados costos de producción, deterioro ambiental y segregación social a los agricultores. Teniendo en cuenta a Chávez, et al. (2021), a nivel económico el costo de los fertilizantes químicos es muy bursátil, ya que depende de los costos a nivel internacional de los insumos necesarios para su fabricación y algunas veces del valor de las importaciones. A nivel ambiental el uso de este tipo de fertilizantes afecta diversos factores como la calidad del suelo, el agua, el aire, y la biodiversidad, en algunas ocasiones se han evidenciado distintas afectaciones en la salud de personas, animales y plantas que conviven en un mismo territorio donde usualmente se aplican. A nivel social, se evidencia que se han generado una polarización económica-social acompañada por segregación y discriminación hacia el sector rural y las prácticas de cultivo que se han utilizado por generaciones.

De acuerdo con García y Lazovski (2011), los agroquímicos son “sustancias o mezclas de sustancias destinadas a controlar o evitar la acción de plagas agrícolas, regular el crecimiento de las plantas, defoliar y desecar o proteger del deterioro, el producto o subproducto cosechado” (pág. 9). Por este motivo, este tipo de productos son de extrema importancia para la industria agrícola, porque disminuyen las afectaciones que producen las plagas. Aunque, es importante aclarar que estos productos son tóxicos, debido a su capacidad de producir alteraciones a la salud de los organismos en los que se emplea, no obstante, el uso de estos plaguicidas se puede observar en labores rurales, industriales y en el uso doméstico, sin tener un control por parte del estado. Sin embargo, aunque en algunos contextos se afirma que los agroquímicos son selectivos y solo atacan a la plaga que se quisiera controlar, para Pacheco y Evelyn. (2017) en la “práctica no existen compuestos totalmente selectivos, pero se trata de buscar el producto y forma de aplicación más

selectiva.” (pág. 14). Por lo tanto, no solo generan una solución para el control de plagas, sino que pueden alterar la biodiversidad que interacciona en el hábitat que se aplica.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone el uso de biofertilizantes, porque son productos de origen natural que en su composición pueden presentar una gran diversidad de microorganismos; bacterias, microhongos y microalgas que proporcionan nutrientes al suelo y tienen bajos costos de producción. Este tipo de productos no afectan el entorno de los organismos que conviven en su mismo hábitat, por lo que promueven la conservación y aumento de la fertilidad del suelo, lo que conlleva a una mejora en las prácticas agrícolas de los agricultores de nuestro país. Teniendo en cuenta que este tipo de fertilizantes están compuestos en gran medida por microorganismos, en estos se pueden encontrar poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre y simbioses, bacterias y microhongos solubilizadores de fosfato y promotores de crecimiento vegetal. Por lo tanto, algunas de las ventajas de utilizar los biofertilizantes es que son menos invasivos para el medio ambiente, más económicos para los agricultores y por ende disminuyen los costos de la producción agrícola, mejoran las características de producción en las cosechas y son de fácil implementación.

De acuerdo con Haro y Valarezo. (2012), el estiércol de los Bovinos es uno de los abonos más utilizados en la agricultura rural, por su composición en cual se evidencian una gran diversidad de bacterias que se desarrollan en los intestinos de estos rumiantes, sin embargo, el estiércol de vaca de acuerdo a Gómez (2012), se caracteriza por tener unos bajos niveles de nitrógeno en su composición, pero se suele usar en climas fríos como un abono natural, debido a que contiene un 0,6% de nitrógeno, un 0,3% de fósforo, un 0,4% de potasio y oligoelementos que promueve el crecimiento de microorganismos y contribuye a la formación de las plantas a bajos costos de producción.

Teniendo en cuenta que el nitrógeno es un elemento versátil y el más abundante en la atmósfera del planeta, que se encuentra de forma orgánica, inorgánica y a través de muchos estados de oxidación, lamentablemente no es asimilable por ningún organismo eucariota, que lo necesita como un componente esencial en la construcción de las proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas, esenciales para la vida. No obstante, los organismos procariontes si lo utilizan para realizar sus procesos de nutrición primarios. Lo cual, puede

definirse como la oxidación biológica del amonio al nitrato, que es realizada por microorganismos aerobios que utilizan el O₂ como aceptor de electrones. De acuerdo con Domene y Rodríguez (S.F), “Las poblaciones autótrofas, que realizan la nitrificación, utilizan dos formas de nitrógeno reducido, amoníaco y nitritos, como fuente de energía para su metabolismo, obteniéndose al final el nitrato, que es utilizado como fuente de nitrógeno por otros organismos.” (pág. 1).

De acuerdo con lo anterior se propone un proyecto de investigación enfocado, en el diseño y elaboración de un manual sobre la aplicación de poblaciones de bacterias biofertilizantes aisladas de estiércol de ganado bovino, con el fin de incentivar el uso de biofertilizantes con este material pedagógico, ya que los manuales permiten fomentar un proceso educativo por medio de la construcción previa de saberes expuestos a partir de actividades y experiencias.

2. Justificación

El presente trabajo de investigación se enfoca en realizar un proceso de aislamiento de bacterias presentes en estiércol de ganado bovino con fin de promover el uso de biofertilizantes. Estos son fundamentales para la industria agrícola, porque mejoran las características de producción en las cosechas y son de fácil implementación para los agricultores conllevando costos muy bajos que benefician al precio de producción de algunos alimentos de uso cotidiano y también de plantas de tipo industrial, su principal objetivo es contribuir al crecimiento y desarrollo de las plantas, aportando nutrientes que utilizan para disminuir el tiempo de crecimiento y de esta forma acelerar la producción agrícola obteniendo mejores beneficios.

Por otra parte, las bacterias están presentes en todas las zonas del planeta Tierra, ya que se adaptan a una gran variedad de climas y producen sustancias orgánicas e inorgánicas, que son utilizadas en los procesos de la industria y agricultura. Algunas de las poblaciones de bacterias nitrificantes contribuyen a la circulación del nitrógeno en el planeta, De acuerdo con Domene y Rodríguez (S.F), utilizan dos formas de nitrógeno reducido, amoníaco y nitritos, como fuente de energía para su metabolismo, obteniéndose al final el nitrato que organismos eucariotas como las plantas pueden utilizarlo.

Además, es importante señalar que en Colombia según el ICA en el año 2018 la población de Bovinos era de 28.245.262, por lo tanto, la producción de excremento de este ganado es alta, ya que algunos de estos organismos defecan en promedio 10 veces al día. Teniendo en cuenta que este excremento contiene una gran diversidad de bacterias que se desarrollan en los intestinos de estos rumiantes que contribuyen al crecimiento de las plantas, ya que serían abonos de tipo orgánicos, y son de fácil acceso para la gran mayoría de los agricultores y se convierte en una alternativa fácil y barata que disminuye el uso de fertilizantes químicos.

Por otro lado, es importante mencionar que este proyecto nace a raíz de un gusto persona que comenzó con la asignatura de profundización Sistemas Microbianos y la observación de diversas bacterias, por tal motivo esto aporta a mi formación como licenciado en biología, porque me brinda referentes teóricos y metodológicos para realizar en futuras prácticas con educandos para el estudio de los microorganismos.

Por tal motivo, este ejercicio práctico promueve el desarrollo de habilidades en la implementación y formulación de proyectos de investigación que considero fundamentales en el proceso de formación de los maestros. Por otra parte, este Trabajo de Grado aporta a la enseñanza de la biología en el sentido que fomenta el uso responsable de los biofertilizantes enfocándose en los beneficios que trae para las plantas y el suelo. Además, motiva el estudio de los microorganismos enfocándose en una población educativa universitaria que está formándose en educación, que por lo general tiene un mayor contacto con el tema agrícola y por esta experiencia conocer los beneficios que conlleva la aplicación de este tipo de biofertilizantes.

Para la Línea de Investigación en Biodiversidad, Biotecnología y Conservación, aporta un referente metodológico que promueve la investigación en bacterias y aporta una propuesta pedagógica que tiene como objetivo evidenciar los beneficios que tiene la implementación de biofertilizantes.

Finalmente, es importante el diseño y elaboración de un manual como propuesta educativa que promueve el ejercicio de investigación y se pueda difundir en diversos contextos educativos, ya que el manual permitirá que las experiencias adquiridas a través de la experimentación puedan llegar a los agricultores que utilizan los fertilizantes químicos y

de esta forma tomar una decisión sobre la técnica de fertilización que sea más amigable con el medio ambiente.

3. Marco Teórico

3.1 Fertilizantes

Para Flores (2018) se denomina “fertilizante o abono a las sustancias orgánicas o inorgánicas que contienen nutrientes en formas asimilables por las plantas, que mantienen o incrementan los contenidos de estos elementos en el suelo, que mejoran la calidad del sustrato a nivel nutricional y estimulan el crecimiento vegetativo de las plantas.” (Pág. 2). De acuerdo con esto, son sustancias con nutrientes asimilables para las plantas que promueven su crecimiento y desarrollo, disminuyendo el tiempo de producción que es utilizado en la industria agrícola.

Teniendo en cuenta lo anterior, es importante mencionar que el autor en el texto abordado menciona diferentes tipos de biofertilizantes como: - Los abonos verdes: su propósito es aumentar la cantidad de material orgánico presente en el suelo, lo que conlleva una mejora de su composición. Además, contribuyen a restaurar o incrementar la actividad de los microorganismos presentes y proporcionan nutrientes. – Bioinoculantes: son productos que contienen microorganismos vivos o inactivos (como bacterias y hongos), que se añaden a los cultivos con el objetivo de aumentar la oferta y disponibilidad de nutrientes en el entorno (Flores 2018). Estiércoles: Estos aportan nitrógeno y materia orgánica a los suelos que otros organismos pueden aprovechar y utilizarlos para su crecimiento. (Flores 2018).

3.1.1 Fertilizantes Químicos

Los fertilizantes químicos son sustancias de origen sintético, por lo tanto, son elaborados artificialmente y están compuestos por sales minerales de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK). En la industria se conocen dos tipos: simples, solo contienen uno de estos elementos y compuestos: que contienen más de uno de estos elementos (Flores 2018).

Por otra parte, esta clase de productos químicos proveen nutrientes a las plantas que contribuyen a la absorción de los sustentos que se encuentran en el suelo, de esta forma disminuye la carencia de estos y aumenta la eficacia de los cultivos a los que se les suministra. Sin embargo, su producción al ser de manera industrial requiere de altas cantidades de agua y

energía, esto en gran escala de genera emisiones de gases tóxicos para la atmósfera, además su aplicación produce altos niveles de nitratos N_2O y NH_3 que son tóxicos para el hombre.

Además, Los fertilizantes químicos en la actualidad son la opción más tradicional que eligen los agricultores para mejorar la producción de los cultivos y así mismo disminuir la presencia de patógenos y mitigar posibles enfermedades. Sin embargo, su uso tiene graves consecuencias tanto en las plantas como en el medio ambiente. (Línea Verde. S.F)

3.1.2 Fertilizantes orgánicos

Para Garro (2017) los fertilizantes orgánicos “son sustancias de origen vegetal o animal que se encuentra en el suelo, cuando proviene de plantas estará conformada por hojas, troncos y raíces, o bien al originarse de animales e incluso microorganismos, por lo que estará formada por cuerpos muertos y sus excretas” (pág. 20), la mayor parte de estas sustancias provienen de las mismas fincas, lo que promueve la sostenibilidad de los sistemas de producción, además a comparación de otros tipos de fertilizantes, no se necesitan altas cantidades de agua y menos productos industriales que a su vez disminuye la contaminación del territorio donde se aplica.

Además, los abonos orgánicos son elementos cruciales para la regulación procesos relacionados con la productividad agrícola, en su composición química tienen altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas, y dependiendo del nivel aplicado, originan un aumento en los contenidos de materia orgánica del suelo, con la capacidad de retención de humedad y en el pH (Ramos, Terry 2014)

3.1.3 Biofertilizantes:

Para Flores (2018) Es un fertilizante biológico de origen natural que proporciona a las plantas todos los nutrientes que requieren y mejoran la calidad del suelo creando un nicho microbiológico. Teniendo en cuenta lo anterior para Afanador (2017) son una sustancia que “contiene microorganismos vivos que, al ser aplicada a semillas, superficies de plantas o suelo, colonizan la rizosfera o el interior de la planta y promueve su crecimiento aumentando el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios”. (pág. 2). Su principal objetivo es movilizar la disponibilidad de nutrientes con base en su actividad biológica, además recupera el microbiota del suelo que se ha perdido por el uso de fertilizantes químicos industriales.

Además, contribuyen a la conservación de las prácticas agrícolas y al aumento de la demanda mundial de alimentos y de esta forma disminuir las afectaciones al medioambiente, en especialmente la calidad del suelo y equilibrio ecológico. Algunas de las ventajas de utilizar los biofertilizantes es que son menos invasivos para el medio ambiente y más económicos para los agricultores del país y por ende disminuye los costos de producción de los alimentos. A partir de su uso mejora la producción en las cosechas y son de fácil implementación para los campesinos.

3.2 Bacterias:

Se podría definir a las bacterias como organismos procariotas unicelulares, que carecen de organelos, no tienen un núcleo definido y son de vida libre. Según Mercedes y Ricardo (2017), las bacterias al ser organismos procariotas son:

Capaces de utilizar una amplia gama de sustancias reducidas (orgánicas e inorgánicas) y de agentes oxidadores para generar gradientes electroquímicos y producir energía y poder reductor; además del metabolismo fermentador. Los agentes oxidadores son variados, por ejemplo, oxígeno, nitrato, sulfato, Fe (III), As (IV), Se (VI), etc.), dependiendo de las condiciones del hábitat. (pág. 2)

A partir de esto, las bacterias se caracterizan por tener una gran diversidad metabólica, que les permiten colonizar diversos lugares del planeta Tierra y poder adaptarse. Por lo general las bacterias poseen un citoplasma delimitado por una membrana plasmática, en la parte exterior se encuentra la pared celular que varía según el tipo de bacteria y le permite obtener nutrientes del exterior. Por otra parte, el genoma bacteriano está constituido por un filamento largo de ADN, circular y cerrado, que está compactado al interior del citoplasma denominado nucleoide, y también poseen cápsula, flagelos y fimbrias. (Gino 2018)

3.2.1 Nutrición Bacteriana

Para poder crecer y desarrollarse las bacterias requieren de un ambiente propicio que contribuya a su proliferación, por tal motivo necesitan una serie de nutrientes en el medio que faciliten este proceso: agua, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno y algunas sales minerales (Ver figura 1). Así mismo Caycedo et, al (2021) define a la nutrición en las bacterias como:

Un conjunto de procesos por los cuales los seres vivos toman del medio las sustancias que necesitan para su desarrollo (nutrientes) que requieren para su catabolismo (mantenimiento) y su anabolismo (crecimiento). De igual forma, las bacterias también realizan síntesis de nuevos compuestos celulares, que demandan energía procedente del medio ambiente. (pág.2)

Las Bacterias presentan diversos tipos de nutrición, algunas toman como fuente la energía proveniente del sol, a lo cual se le denomina bacterias fotótrofas; fotolitótrofa que captan energía lumínica en presencia de sustancias inorgánicas y · fotoorganotrofas que captan energía lumínica con requerimiento de sustancias. Otras bacterias realizan sus procesos de nutrición a partir de moléculas químicas en reacciones biológicas de óxido-reducción, se les denomina bacterias quimiótrofas; quimiolitótrofas realizan captación de energía química a partir de sustancias inorgánicas y quimioorganotrofas que captan energía química a partir de sustancias orgánicas. (Caycedo et, al. 2021)

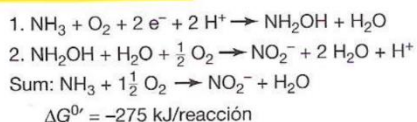
TIPO DE ORGANISMO	FUENTE DE ENERGÍA	FUENTE DE CARBONO	ORGANISMOS
Fotolitótrofo (fotoautótrofo)	Luz solar	CO ₂	Vegetales, bacterias fotosintéticas
Fotoorganótrofo (fotoheterótrofo)	Luz solar	Compuestos orgánicos	Bacterias purpúreas
Quimiolitótrofo (quimioautótrofo)	Reacciones químicas (compuestos inorgánicos)	CO ₂	Bacterias nitrificantes
Quimioorganótrofo (quimioheterótrofo)	Reacciones químicas (compuestos orgánicos)	Compuestos orgánicos	Animales y hongos

Figura 1: Clasificación de Microorganismos de acuerdo con la Fuente de Energía. Tomada de Rodríguez, M (2013)

3.2.3 Bacterias Nitrificantes

En primer lugar, el proceso de nitrificación se define como la oxidación biológica del amonio al nitrato, que es realizada por microorganismos aerobios que utilizan el O₂ como aceptor de electrones. De acuerdo con Domene y Rodríguez (S.F), “Las poblaciones autótrofas, que realizan la nitrificación, utilizan dos formas de nitrógeno reducido, amoníaco y nitritos, como fuente de energía para su metabolismo, obteniéndose al final el nitrato, que es utilizado como fuente de nitrógeno por otros organismos.” (pág. 1). Por lo tanto, se puede especificar que existen dos tipos de bacterias nitrificantes una que convierten el amoníaco en nitritos para realizar su proceso nutrición (ver Figura 2) y, por otro lado, las bacterias nitrificantes que convierten el nitrito en nitrato para su nutrición. Los principales géneros de bacterias nitrificantes son las oxidadoras de amoníaco: *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* y *Nitrosolobus* y las oxidadoras de nitratos como *Nitrobacter*, *Nitrospira* y *Nitrosococcus*. (Domene y Rodríguez. S.F).

Bacterias nitrosificantes



Bacterias nitrificantes

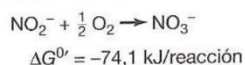


Figura 12.9 Reacciones que intervienen en la oxidación de compuestos de nitrógeno inorgánico por bacterias nitrificantes quimiolitotrofas, (véanse también Figuras 17.32 y 17.33).

Figura 2: Reacciones que intervienen en la oxidación de compuestos nitrógeno por bacterias nitrificantes. Autor Iñon, N (s.f)

3.3. Fijación Biológica del Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento versátil, que se encuentra de forma orgánica e inorgánica y a través de muchos estados de oxidación; que, a su vez es el elemento más abundante en la atmosfera del planeta Tierra representando el 78%, sin embargo, no es asimilable por ningún organismo eucariota que lo necesita para ser un componente esencial para la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas, pero si por organismos procariotas que lo utilizan para realizar sus procesos de nutrición primarios. En ese sentido el ciclo del

nitrógeno es el proceso por el cual circula y recircula, este ciclo consta de tres etapas amonificación, nitrificación y asimilación. (Iñon s.f)

Amonificación es el proceso por el cual según Iñon (s.f), “los compuestos nitrogenados encontrados en el suelo, productos de la descomposición de materiales orgánicos son degradados a compuestos simples por organismos que habitan el suelo, principalmente bacterias y hongos.” (pág. 4) Por otra parte, la nitrificación es el proceso por el cual varias especies de bacterias comunes en los suelos oxidan el amoníaco o el ion amonio. Finalmente, la asimilación, según Iñon (s.f), es el proceso por el cual: “Las plantas pueden tomar el amonio y el nitrato a través de las raíces y pueden usarlos para la síntesis de sus proteínas y los ácidos nucleicos. Los animales obtienen su nitrógeno al comer las plantas o a otros animales.” (pág. 14), además, los animales herbívoros desechan el amonio por medio de heces fecales donde las bacterias interaccionan en este ciclo.

3.3.1Ciclo del Nitrógeno

Desde un punto de vista termodinámico el nitrógeno gaseoso N_2 , es la forma más estable de este elemento y es el reservorio más importante del planeta, sin embargo, la cantidad de energía que se necesita para degradar la molécula de nitrógeno (romper los enlaces), por lo tanto, solo pocos organismos son capaces de utilizar el nitrógeno en el proceso de fijación, por esta razón el proceso de reciclaje del nitrógeno se da en sus formas más simples como el amoniaco y el nitrato, pero no es suficiente para las cantidades que se necesitan para los organismos.

Desnitrificación: Teniendo en cuenta que el nitrato se utiliza como aceptor de electrones alternativo y su producto final es el N_2 o el N_2O , lo cual se conoce como el proceso de desnitrificación (El paso de nitrato a nitrógeno no gaseoso), este proceso se considera perjudicial porque elimina el nitrógeno fijado del ambiente, lo que puede ser un problema si los campos abonados con nitrógeno se inundan, sin embargo, es un proceso beneficioso si se tiene en cuenta que se utiliza para el tratamiento de aguas residuales. Nitrificación: Del amoníaco se produce durante el proceso de descomposición de los compuestos orgánicos del nitrógeno, este compuesto se considera estable. Gran parte del amoníaco liberado por descomposición anaeróbica es rápidamente reciclado y convertido en aminoácidos por parte

de plantas y bacterias. Este proceso se conoce como nitrificación que es la oxidación de NH_3 a NO_3 , por parte de la acción de las bacterias nitrificantes, este es un proceso de producción de nitrato y si se añade a suelos o materia orgánica rica en proteínas aumenta la tasa de nitrificación que es asimilable por las plantas. Amonificación es el proceso mediante el cual se le agrega amoníaco a los suplementos que son usados para conservar y mejorar la alimentación de los rumiantes, esta práctica hace que se rompan las estructuras de fibras como los enlaces de lignina, pero además permite que se disponga la proteína de tal forma que favorece a la actividad de manera significativa (ver figura 3).

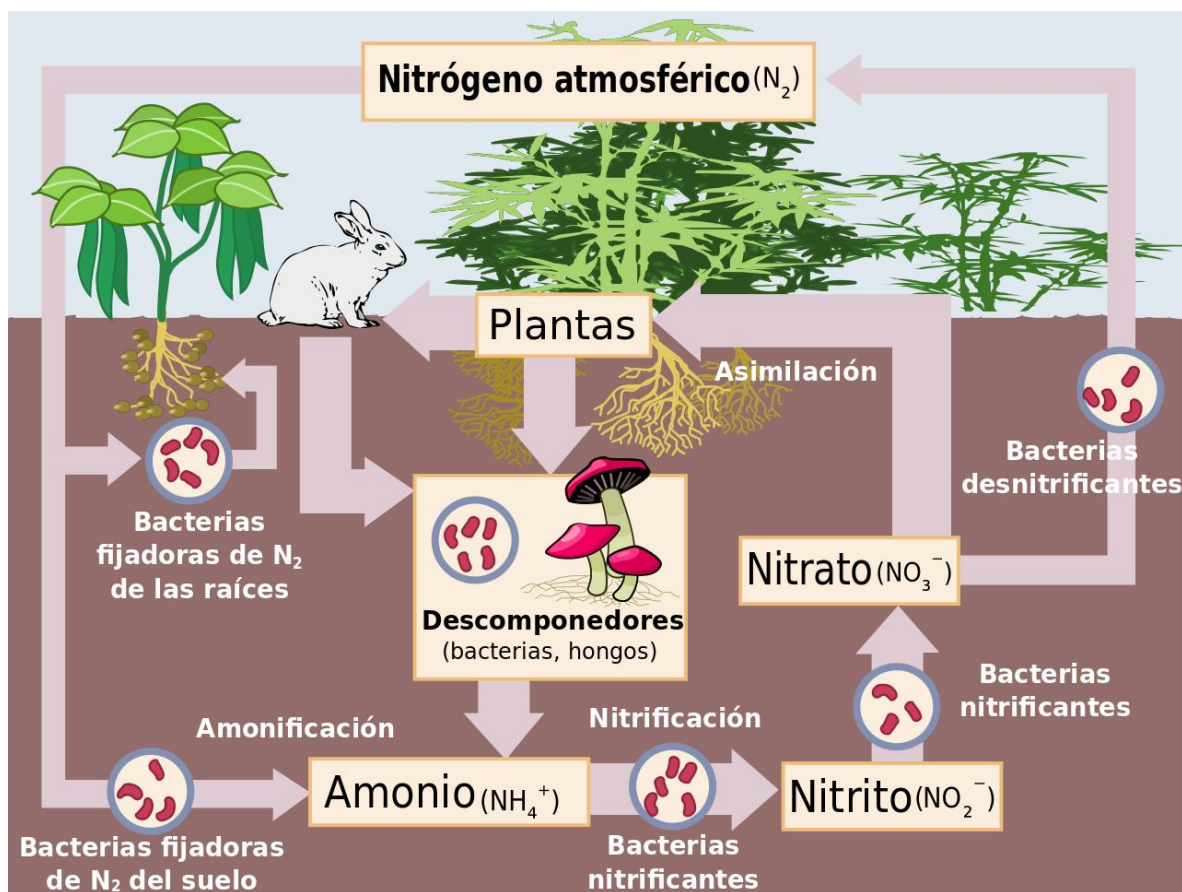


Figura 3: Ciclo del nitrógeno. Autor desconocido.

3.4 Manuales

Para Gómez (2010), los manuales son:

Una orientación escrita, una guía sobre los procedimientos prácticos que el estudiante debe realizar en un laboratorio, sirviendo de apoyo y aplicación al curso teórico; el manual contiene

entonces aplicación de teoría, procedimientos y un manejo adecuado de equipos técnicos, que permiten el acercamiento a procesos de tipo industrial (pág. 23).

En este sentido se puede considerar a un manual como un documento en el cual, se albergan procedimientos prácticos que el educando o el sujeto que desea aprender, por lo tanto, lo utiliza como guía para realizar una actividad, en este sentido y tomando como referente a Cifuentes y Quispe (2010), que argumentan que un manual es:

un material impreso que sirve como una herramienta de introducción al manejo de experimentos y procesos básicos en microbiología, un instrumento que apoya el proceso de enseñanza aprendizaje y facilita las prácticas de laboratorio, con explicaciones específicas y detalladas en relación con la dirección de los diferentes procedimientos en los protocolos a desarrollar. (Pág. 23)

De lo anterior se puede entender a los manuales como una herramienta didáctica que permite introducir a los educandos a procesos sobre la microbiología y por medio de la explicación de procesos por medio de la elaboración de esquemas conceptuales que faciliten el proceso de enseñanza de las temáticas que se quieren compartir. Por otro lado, es importante mencionar como los manuales facilitan los procesos de aprendizaje, ya que albergan información de forma práctica y didáctica que contribuyen en la formación de los educandos. Además, es importante mencionar que los manuales se desarrollan en base a las necesidades que tiene la población y sus características particulares.

4. Antecedentes

A continuación, se presenta una revisión documental acerca de diferentes trabajos de investigación, que brindan referentes teóricos y metodológicos que aportan al proyecto. Estos se categorizaron en tres aspectos: 1. Internacional 2. Nacional y 3. Local.

4.1 Internacional

En primer lugar, se propone la Tesis de maestría en biociencias realizada por Paredes y Peña (2018), titulado Aislamiento de bacterias nitrificantes y evaluación de su capacidad de degradación de tricloroetileno en un biorreactor de lecho natural empacado. El cual tenía como objetivo general desarrollar biomasa de bacterias nitrificantes para evaluar la capacidad de tricloroetileno en un biorreactor de lecho natural empacado. Para ello el autor utilizó una

metodología de aislamiento y producción de bacterias nitrificantes a partir de una laguna aerobia para el tratamiento de aguas residuales utilizando un biorreactor de flujo continuo, proceso que según los autores mejoran el proceso de aislamiento de bacterias de difícil cultivo y brindar las condiciones adecuadas para garantizar el crecimiento y desarrollo, las bacterias se identificaron a partir de pruebas de PCR y electroforesis en gel de agarosa, posterior a esto se evaluó la capacidad de degradación del TCE por medio de la cromatografía de gases. Los autores de la investigación tuvieron como resultado que se ha demostrado que las bacterias nitrificantes obtenidas de lodos activos utilizados en el tratamiento de aguas residuales tienen la capacidad de descomponer el tricloroetileno (TCE) en un sistema por lotes. Además, se ha observado que logran una mayor tasa de degradación cuando se adhieren y se cultivan en un biorreactor de lecho natural empacado a escala de laboratorio. Finalmente, este trabajo de tesis aporta a la investigación referentes conceptuales y procedimentales para el aislamiento de bacterias nitrificantes, brindando prácticas de laboratorio que son de importancia al momento de realizar los aislamientos pertinentes para ser utilizada en los bioensayos.

En segundo lugar, se propone un artículo de investigación realizado por López, Pistili, et al. (2021), titulado Eficacia de los biofertilizantes en la producción de variedades de frijol, presentado por la Universidad Nacional de Concepción, Paraguay y fue obtenido por Scopus (Plataforma UPN), el cual tenía como objetivo evaluar la efectividad de la aplicación foliar de biofertilizantes en la producción de variedades de haba, el autor utilizó como metodología un diseño experimental con parcelas subdivididas dispuestas en esquema factorial (2x3), con cuatro repeticiones donde la aplicación de los biofertilizantes se realizó mezclando con la semilla antes de la siembra y posteriormente en cobertura cada 20 días. Este artículo de investigación tuvo como resultados indicar la eficiencia de los Biofertilizantes en la producción de variedades de frijol de manera significativa en todas las determinaciones evaluadas, además se pudieron observar algunas de las interacciones significativas de los factores en la altura a los 70 DDE, número de vainas y rendimiento. Por consiguiente, esta propuesta aporta a mi proyecto de investigación, en el sentido que brinda referentes teóricos y prácticos, brindando información de cómo los usos de fertilizantes mejoran el rendimiento del cultivo. Además, permite tener un referente práctico de gran interés al momento de formular el bioensayo que se plantea en el transcurso de la investigación.

En tercer lugar, se presenta el trabajo de maestría en ciencias realizado por Priscila (2016), titulado Aislamiento y cultivo de microorganismos asociados a oncoides de manantiales hidrotermales de Santispac, Bahía de concepción, B, C, S., México. Donde el autor tiene como objetivo realizar el aislamiento y cultivo de microorganismos asociados a oncoides de manantiales hidrotermales. Para ello se infiere que el autor realizó una metodología de carácter experimental por medio de la toma de muestras y los aislamientos obtenidos de las mismas. Como resultado de este estudio, se aislaron un total de 22 cepas bacterianas, y mediante el análisis de secuencias parciales del 16S ARNr, se logró identificar los géneros Nitratireductor, Ornithinibacillus y Bacillus, así como las especies *Bacillus licheniformis* y *Synechococcus elongatus*. Estos cultivos obtenidos representan una oportunidad para futuras investigaciones, ya que pueden utilizarse como modelos de estudio para examinar y comprender los mecanismos genéticos y bioquímicos implicados en la resistencia bacteriana a metales y metaloides, con el objetivo de aplicar estos conocimientos en procesos de biorremediación. Finalmente, este documento aporta a la investigación ya que brinda una contextualización teórica de algunos conceptos estructurantes a partir del aislamiento de bacterias nitrificantes, finalmente propone referentes conceptuales que permiten facilitar esta práctica de laboratorio.

4.2 Nacionales

En cuarto lugar, se analiza un Trabajo de Grado realizado por Méndez (2008) titulado: Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones, presentado a la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. El cual tenía como objetivo determinar la microflora bacteriana en vacas donantes de embriones en fincas que desarrollan programas de transferencia embrionaria. Para ello se utilizó una metodología de tipo experimental en donde se utilizaron 21 vacas donantes de diferentes razas, localizadas en diversos municipios del país, donde se tomaron muestras de los primeros chorros después de haber pasado por un filtro, posteriormente se observó un crecimiento microbiano por medio de colonias, donde se realizó la identificación de las bacterias por medio de pruebas bioquímicas para su posterior análisis. Como resultado el autor concluye que en intestino bovino se identificaron un número alto de microorganismos, sin embargo, la considera normal, pero también se identificaron organismos patógenos que se podrían transmitir. Este trabajo de investigación aporta referentes tanto teóricos como procedimentales que son de

gran importancia para el posterior aislamiento y caracterización de bacterias provenientes del excremento bovino, además ofrece un referente de los microorganismos presentes en el intestino de algunos bovinos.

En quinto lugar, se revisa un Trabajo de Grado, realizado por Natalia Cataño, Laura M. Franco, Manuela Montoya (2017) titulado: Preliminares para la evaluación de métodos de aislamiento y pruebas bioquímicas, para la identificación de *Nitrosomonas sp.*, obtenidas de diferentes nichos del campus Belmonte de la Universidad Libre, seccional Pereira, con propósitos de biocompostaje de subproductos de la caña de azúcar, el cual tenía como objetivo realizar el aislamiento y caracterización de bacterias nitrificantes del género *Nitrosomonas sp.* Para ello se utilizó una metodología de tipo experimental, por medio de la toma de muestras, donde se seleccionando 3 nichos; gradual, caña brava y pomarroja, luego las muestras se sembraron en medio líquido y sólido (Agar y Caldo Nitrosomonas), se realizó la prueba bioquímica de identificación de nitritos con reactivo de Griess y como prueba confirmatoria se empleó óxido de zinc, para evidenciar presencia de nitratos en el medio. Como resultado del trabajo de investigación se obtuvieron diferentes colonias con morfologías distintas y características que las diferenciaban entre sí. Según los resultados del reactivo de Griess, solo dos de estas colonias fueron positivas para nitritos. Sin embargo, todas las colonias no mostraron cambio de color al agregar óxido de zinc, lo que sugiere la presencia de nitratos y la posible presencia previa de nitritos. Por lo tanto, se presume la presencia de *Nitrosomonas sp.* Este antecedente es fundamental, porque me propone referentes teóricos y metodológicos para la identificación y caracterización taxonómica de bacterias nitrificantes, lo cual permite viabilizar la práctica y tener mejores resultados. Además, permite tener una metodología que se puede aplicar en condiciones de laboratorio y un referente procedimental de la toma de resultados.

En sexto lugar, se analiza un estudio realizado por Caycedo, Corrales y Trujillo (2021), titulado: Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química, este documento tiene como propósito realizar una revisión bibliográfica acerca de los procesos que hacen parte de la nutrición bacteriana, teniendo en cuenta los requerimientos nutricionales para que la bacteria pueda sobrevivir estudio realizado por la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá. Se infiere que el autor en el transcurso del artículo

de investigación utiliza una metodología de revisión bibliográfica, Como resultado se propone que la nutrición es un conjunto procesos y reacciones mediante las cuales los seres vivos toman del medio, en el que habitan, las sustancias químicas que necesitan para crecer, además afirma que las características distintivas de los medios de cultivo se derivan de los compuestos empleados en su formulación, así como de las propiedades físicas y químicas de los carbohidratos, las proteínas y los indicadores que revelan el comportamiento de las bacterias. Este antecedente brinda a la investigación un aporte conceptual que contribuye al marco teórico del proyecto, por otra parte, ofrece algunos referentes de los requerimientos nutricionales de las bacterias y los medios en donde sobreviven.

En séptimo lugar, se analiza un estudio realizado por Bernal y Orozco (2019), titulado: Comparación del estiércol bufalino y bovino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia, presentado a la Universidad Pontificia Bolivariana, teniendo como objetivo analizar el estiércol bufalino y bovino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia. Para el desarrollo se utilizó una metodología de tipo experimental en donde se tomó estiércol de ganado bufalino y bovino de una finca en Santander. Para ello las muestras fueron recolectadas, transportadas y almacenadas en el laboratorio de la Universidad Pontificia Bolivariana con el fin identificar y clasificar la diversidad microbiana presente en los diferentes tipos de estiércol animal y la influencia de familias específicas en la producción de metano, así como también el tiempo de adaptación o incubación para crear una colonia bacteriana sana y eficiente para proceso de digestión anaerobia. Con estos resultados el autor afirma en una de sus conclusiones es que el estiércol de vaca presenta mejor adecuación y producción de metano respecto al estiércol de búfalo. Este antecedente aporta a la investigación porque muestra las características físicas y químicas que presenta el estiércol de bovinos y como sus propiedades podrán ser utilizadas para la producción de biofertilizantes, lo que demuestra la pertinencia que traería la implementación de este para la realización de biofertilizantes.

En octavo lugar, se presenta el trabajo de investigación titulado Manual de laboratorio para el estudio de microorganismos anaerobios obligados realizado por Fernando Rodríguez, Elizabeth Martín, Carolina Laverde Olga Lucía Mayorga, Fredy Carvajal y Tatiana Alejandra Rodríguez (2011). Donde el objetivo general es brindar de manera detallada métodos y

estrategias de aislamiento, purificación, cultivo, conservación e identificación de las especies bacterianas y fungales que predominan en el rumen, además se infiere que la metodología se basa en el estudio de antecedentes bibliográficos y el planteamiento de diferentes prácticas de laboratorio para el estudio de bacterias. Se obtiene como resultado un manual práctico donde se exponen las reglas y estrategias para aislar, cultivar y propagar en el laboratorio un microorganismo anaerobio obligado del rumen, además el autor propone que gracias a los avances metodológicos presentados en este manual de laboratorio, se ha logrado adquirir conocimientos sobre la diversidad genética microbiana presente en el tracto digestivo de diversas especies animales en Colombia, así como comprender las interacciones complejas que ocurren en este entorno. Este antecedente contribuye a un referente procedimental donde se pueden tomar ejemplos prácticos de la conformación de un manual y como plantear prácticas de laboratorio enfocadas en una población en particular.

4.3 Locales

En noveno lugar, se analiza un Trabajo de Grado de Piraquive (2019) de La Línea de Investigación Biodiversidad, Biotecnología y Conservación, de la Universidad Pedagógica Nacional, Sede Bogotá, titulado: Análisis del guano del murciélago *Carollia perspicillata* como biofertilizante de bosques perturbados, que tiene como objetivo aislar e identificar bacterias a partir de muestras coprológicas (guano) del murciélago *C. perspicillata* y su relación como biofertilizantes en bosques perturbados. Para ello se utilizó como metodología la obtención de muestras fecales del murciélago con el fin de observar la actividad microbiana presente y su posterior análisis. Como resultados se encontró un crecimiento del doble de tamaño del follaje comparado con el control en un mes, indicando que el guano es un biofertilizante rico en bacterias nitrificantes y nutrientes (NPK) necesarios para el crecimiento acelerado de una planta. Esta investigación es importante, porque promueve el uso de bio-fertilizantes a partir de guano de murciélago, identificando su composición microbiana y su relación con el ambiente, además brinda referentes teóricos y prácticos sobre los aspectos metodológicos referentes al aislamiento de bacterias promovidos por la línea de investigación de mi interés.

En Décimo lugar, se analiza el Trabajo de Grado de Quevedo (2014) titulado: Cartilla para docentes del Instituto Pedagógico Nacional sobre simbiosis y procesos biotecnológicos: el biofertilizante *Rhizobium* sp en *Phaseolus vulgaris* para la reducción de fertilizantes

químicos de la Universidad Pedagógica Nacional, Sede Bogotá, el cual tenía como objetivo diseñar una cartilla sobre el biofertilizante *Rhizobium sp* en *Phaseolus vulgaris* dirigido a docentes de Biología del Instituto Pedagógico Nacional, como aporte a la enseñanza de la simbiosis, los procesos biotecnológicos y la reducción de fertilizantes químicos. Este trabajo se realizó en dos fases, lo biológico con el uso del Cerapio del laboratorio de Biotecnología y lo pedagógico empleando estos resultados para generar un material didáctico como propuesta para la reducción de fertilizantes químicos. Este antecedente aporta a mi investigación, porque retoma referentes conceptuales y procedimentales de los biofertilizantes y sus beneficios para la industria, además, brinda un ejemplo de cómo realizar un material pedagógico para poder ser aplicado posteriormente.

En onceavo lugar, se presenta el trabajo de Grado de la compañera Herrera (2022). Titulado Micorrizas arbúsculares en *Lycopersicon esculentum* (Tomate Santa Clara): el bioensayo como una estrategia para la elaboración de un material didáctica que reconozca el uso de los biofertilizantes. El cual tenía como objetivo general realizar un estudio de la simbiosis de las micorrizas arbúsculares con diferentes géneros con tomate Santa Clara, con el fin de realizar una estrategia que permita la elaboración de una cartilla didáctica enfocada al reconocimiento y uso de los biofertilizantes. De acuerdo con esto se infiere que la autora utilizó una metodología experimental y un enfoque mixto por el que pudiera plantear su investigación. Los resultados obtenidos fue el desarrollo de un bioensayo para la elaboración de una cartilla con el fin de evaluar las herramientas educativas y promover la enseñanza desde el interés particular o colectivo. Finalmente, este antecedente me permite tener un referente teórico y práctico de la elaboración de material didáctico, a partir de una práctica de laboratorio, así mismo me permite tener un ejemplo de cómo plantear y realizar un bioensayo y de esta manera promover el uso de los biofertilizantes.

5. Planteamiento de problema

En el siglo pasado, la población a nivel mundial sufrió un crecimiento acelerado que conllevó al aumento de producción y la calidad de los productos agroalimentarios, eso con el fin de responder a las necesidades alimenticias. Lo anterior impulsó al Fitopatólogo Norman E. Borlaug, (el padre de la agricultura moderna), a plantear un proyecto innovador en 1944 que tenía como objetivo aumentar la productividad del sector agrícola incorporando

avances tecnológicos, incrementando el rendimiento de los cultivos. Sin embargo, esto conlleva a la implementación de prácticas agrícolas que incentivaron la aplicación de pesticidas y fertilizantes químicos a gran escala que han generado diversos problemas a nivel económico, agrícola y social, que afectan a la población humana y aumentan los precios de los insumos lo que incrementa la desigualdad social.

Por lo anterior, se propone como alternativa el uso de biofertilizantes, estos son sustancias de origen natural que proporcionan al suelo diversos nutrientes que algunos seres vivos requieren para sus procesos de crecimiento y desarrollo. En su composición contienen una gran diversidad de bacterias y microhongos que proveen nutrientes con bajos costos de producción sin afectar al medio ambiente, además, el uso constante de estos compuestos promueve la conservación y el aumento de la fertilidad del suelo, lo que genera un aumento en las prácticas agrícolas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone realizar el aislamiento de Bacterias Nitrificantes a partir de una muestra de excremento ganado Bovino de raza Holstein, con el fin de promover el uso de biofertilizantes, para ello se contempla realizar un bioensayo que tiene como objetivo comparar dos cultivos, a uno de ellos se le proporcionará el biofertilizante a partir de poblaciones de bacterias nitrificantes y al otro ningún tipo de compuesto. Esto se plasmará mediante una propuesta pedagógica en forma de un manual de prácticas de cultivo, para que cualquier persona interesada en el tema pueda aplicarlo.

Por lo anterior se plantea la siguiente pregunta problema:

¿Cómo incentivar una estrategia en forma de manual que promueva el uso de los biofertilizantes por medio del estudio de las poblaciones de bacterias nitrificantes presentes en excremento de ganado bovino de raza Holstein?

6. Objetivos

6.1. Objetivo General

- Analizar las poblaciones de bacterias nitrificantes presentes en excremento de ganado Bovino de raza Holstein, para incentivar el uso de biofertilizantes por medio de una estrategia pedagógica.

6.2. Objetivos específicos

- Aislar poblaciones de bacterias nitrificantes a partir de excremento de ganado bovino en medios de cultivo selectivo.
- Comparar mediante Bioensayos con biofertilizantes el crecimiento del cilantro *Coriandrum sativum*.
- Elaborar un manual de prácticas de laboratorio como estrategia pedagógica.

7. Metodología

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación es necesario determinar una ruta metodológica que establezca los procesos necesarios para realizar el aislamiento de Bacterias Nitrificantes a partir de excremento de ganado Bovino de raza Holstein, por ello, se describirán las fases, técnicas e instrumentos que servirán para la recolección de datos y los análisis correspondientes.

Además, para el transcurso de esta propuesta de Trabajo de Grado es importante, enmarcar la investigación a una propuesta metodológica, por lo tanto, se propone utilizar un paradigma hermenéutico descriptivo, el cual permite según Packer (s.f); integra descripciones y estudios humanos significativos de manera cuidadosa y detallada con ideas teóricas previas basadas en cambios en la comprensión de la práctica. De esta forma la hermenéutica, permite al investigador estudiar fenómenos sociales que afectan a una comunidad en específico, y de esta manera plantear proyectos de investigación que permitan transformar realidades sociales. La descripción permite al investigador, estudiar e interpretar una situación particular que afecta a una comunidad en especial, además por medio de la investigación se proponen unos proyectos que responden a la situación estudiada. Para Gómez (2019), “La hermenéutica es primordialmente teórica y derivativamente práctica,

puesto que su naturaleza práctica depende de su naturaleza eminentemente teórica, al ser su aplicación”. Lo anterior, es importante porque si se tiene en cuenta que la fundamentación teórica de la propuesta educativa se basa en la experimentación por medio de la práctica, esto permite que la propuesta educativa que es el insumo final de la Trabajo de Grado comprenda un referente teórico que se basa en la descripción y la fundamentación teórica; sin embargo, también comprende un referente práctico basado en la experimentación que permite reforzar y dar peso a la propuesta que se desea construir.

Se opta por el enfoque mixto para abarcar aspectos socioambientales ligados con promover el uso de biofertilizantes mediante el diseño y elaboración de un manual como propuesta pedagógica, por lo tanto, se propone un método mixto de recolección de datos, teniendo en cuenta que para Sampieri et al, (2003) “La investigación oscila entre los esquemas de pensamiento inductivo y deductivo, además de que por parte del investigador necesita un enorme dinamismo en el proceso. Lleva a un punto de integración de lo cualitativo y lo cuantitativo”.

7.1 Área de estudio

El día 14 de septiembre del año 2022, se procedió a realizar la toma de las muestras de excremento de ganado Bovino de 14 ejemplares de la raza Holstein, ubicados en un potrero de uso comercial encaminado a la venta de bebidas lácteas en el barrio el Pinar, localidad de Suba – Bogotá. Ubicado en la dirección Cl. 152a #99-61 a 99 (ver figura 4), se recurrió a este sitio debido a la presencia del ganado bovino de interés, es importante mencionar, que el lugar realiza la venta de leche como actividad comercial, ya que se encuentra ubicado en un espacio alrededor de casas y apartamentos.

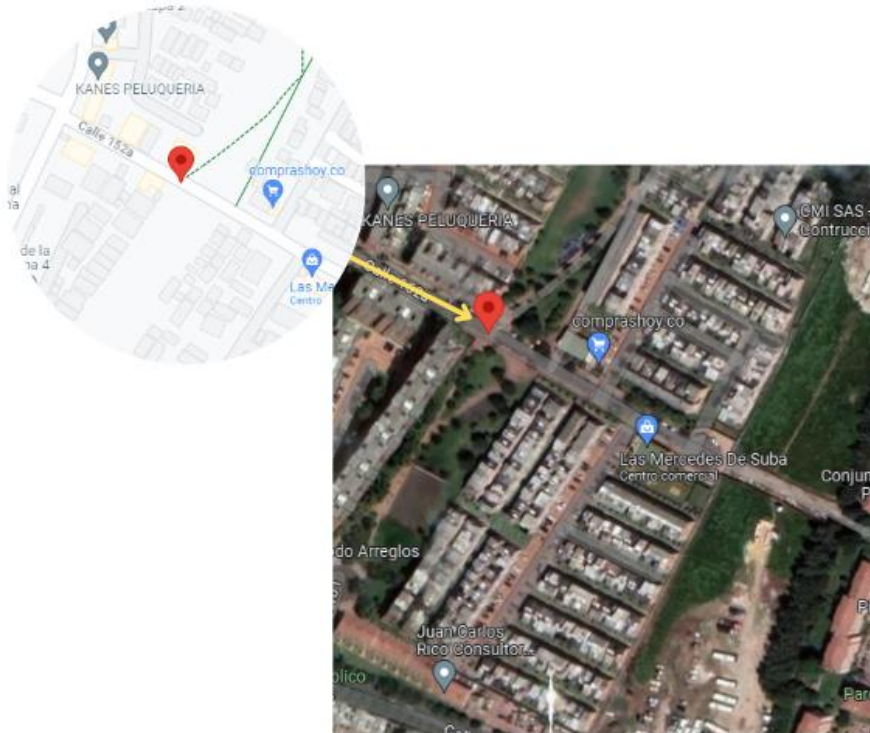


Figura 4: Ubicación por medio de la plataforma Google Maps.

7.2 Muestreo Aleatorio Simple.

Para el desarrollo de esta investigación, se colectaron tres muestras de excremento de bovino de raza Holstein, cada muestra se realizó de forma aleatoria en distintos puntos del terreno de la finca hasta completar de cada muestra 100 g. Estas muestras estarán separadas por medio de bolsas plásticas negras y recolectadas con pala para evitar el contacto con el excremento. Es importante mencionar que no se tomará a un Bovino en particular, sino varios, y se indagará sobre su forma de alimentación, las características de la población (edad, sexo), para el posterior análisis.

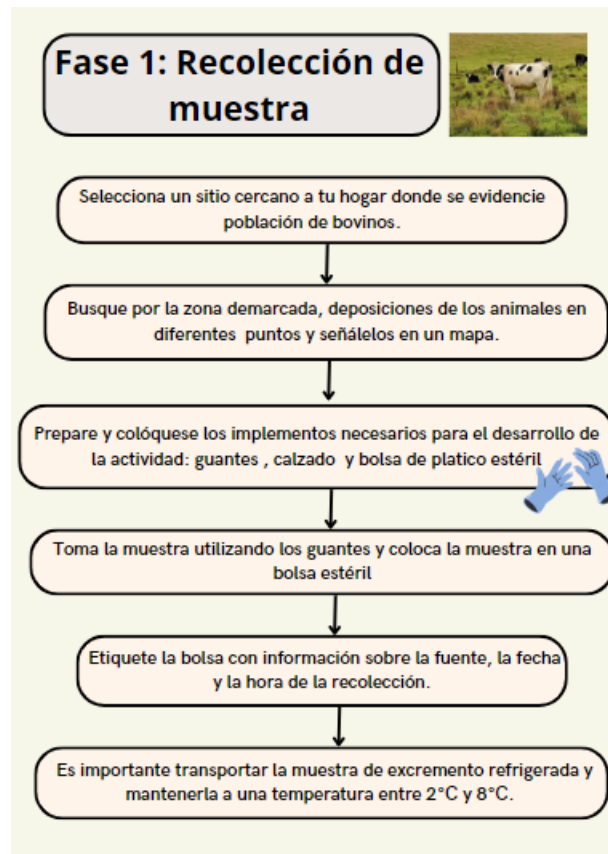


Figura 5: Recolección De la muestra (Esquema del Manual). Realizada por Johann Caicedo

7.3 Aislamiento primario de bacterias nitrificantes.

Se toma excremento fresco de la muestra y se pesa 10 g y se coloca en un Erlenmeyer con 90 mL de solución salina (0.85% NaCl) estéril y se agita por 5 minutos, se deja por 7 días y así se obtiene la dilución 10-1. A partir de esta dilución realizar diluciones seriadas de 10-2 10-3 (Valencia, H 2010)

A partir de las diluciones seriadas de 10-2 y 10-3 sembrar 0.1 mL en cajas de Petri con el medio de cultivo selectivo SWA y MCA por duplicado y se deja a temperatura ambiente por 15 días.

Medio de Cultivo sólido SWA (Soliano y Walker), el cual está compuesto por (NH₄)₂SO₄ (sulfato de amonio) 0.5 g, KH₂PO₄ (Fosfato monopotásico) 0.2 g, CaCl₂·2H₂O (Cloruro de calcio) MgSO₄·7H₂O (Sulfato de magnesio hepta hidratado) 0.04 g, Fe-EDTA 0.5 mg, rojo fenol 0.5 mg, Solución de elementos traza 10 mL, agua destilada 1 L y agar- agar de 20 g.

Composición Solución de elementos de traza: $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (molibdato de sodio) 0.01g/100 mL, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de manganeso) 0.02g/100 mL, $\text{CoCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de cobalto) 0.002 g/100 mL, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de zinc) 0.017200 mL, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre) 0.002g/100 ml.

Medio de Cultivo (MCA) composición g/L: NaHCO_3 (Bicarbonato de sodio) 0.5 g, MgSO_4 (Sulfato de magnesio) 0.1 g, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (sulfato de amonio) 0.5 g, KH_2PO_4 (Fosfato de disodio) 0.7 g, Na_2HPO_4 (Fosfato de sodio) 13.5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de calcio) 0.18 g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de hierro) 0.014 g, Agar- agar 20 g.

También se realizará un Cultivo Líquido Selectivo (CLS) en donde se colocan 10 g de estiercol en 90 mL a este cultivo por 15 días, la composición de este medio de cultivo es g/L: Carbonato de sodio 0.5 g, reactivo A para Nitratos: ácido sulfanílico 8 g y ácido acético 5 mL, reactivó B para Nitritos: naftilamina 5 g y ácido acético 5 mL, reactivo de Difenilamina para nitratos: Difenilamina 0.7 g, H_2SO_4 al 98% 60 mL, agua destilada 28.8 mL, HCL 1N 11.3 mL.

Posteriormente se realizan diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} y siembra 0.1 mL en el medio de cultivo sólido SWA y MCN, dejándolo a temperatura ambiente.

Fase 2: Preparación de medios de cultivo selectivo SWA y MCA

Aliste los siguientes compuestos y péselos de acuerdo a la cantidad de medios de cultivo que pretenda utilizar

Para ello utilice los siguientes instrumentos de laboratorio: una espátula por cada compuesto, balanza digital de laboratorio, guantes, papel reciclado y Erlenmeyer donde deposite los compuestos pesados

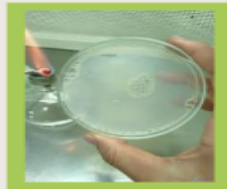
Pese cada uno de los siguientes compuestos dependiendo del medio de cultivo y la cantidad que desee utilizar (Las medidas utilizadas están pensadas para una mezcla de 1000 mL, ajústela utilizando una regla de tres)

Adicione en el Erlenmeyer la cantidad de agua destilada correspondiente para los medios de cultivo.

Con papel aluminio y papel periódico tape el Erlenmeyer y márkelo con cinta de enmascarar con el respectivo nombre del medio de cultivo.

Para evitar contaminación del medio es necesario el proceso de proceso de autoclave para los siguientes elementos: Erlenmeyer con medios de cultivo y cajas de Petri envueltas en papel periódico (el numero de cajas depende de la cantidad de medio de cultivo)

En el tiempo de espera de el autoclave, limpie el lugar donde va a servir los medios de cultivo, para ello utilice alcohol al 70% y servilletas, posterior a esto coloque varios mecheros y préndalos.



Espere hasta que solidifique y envuélvalas en papel parafinado. Colóquelas en una nevera

Apenas termine el proceso de autoclave, tome guantes térmicos y abra el empaque de las cajas de Petri distribuyéndolas en la zona desinfectada.

Tome el Erlenmeyer y agítelo con fuerza, destápelo y vierta la mezcla en las cajas de Petri (cada vez que llene una caja tápela y pase la boca del Erlenmeyer por la llama de mechero)

Figura 6: Asilamiento primario y medios de cultivo. Tomado de manual.

7.4 Identificación de las bacterias nitrificantes.

A partir de los aislamientos en los medios de cultivos selectivos, se procederá a realizar la observación de las bacterias obtenidas, estas se realizarán mediante la coloración de Gram y en microscopio en aumento 100x con aceite de inmersión (ver figura 7).

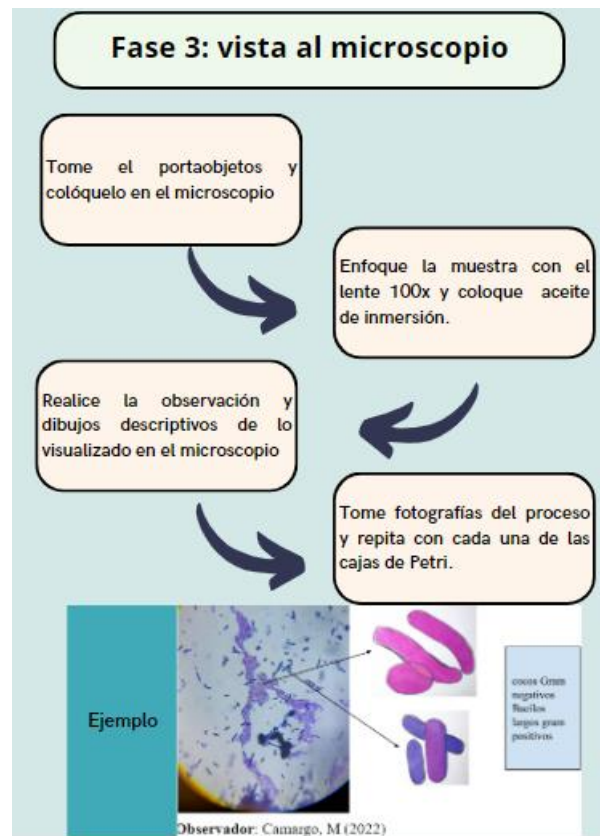


Figura 7: Vista a microscopio (tomado de manual)

Se realizaron pruebas bioquímicas para identificar las bacterias obtenidas del cultivo, para ello se tomará la prueba a partir del reactivo de Griess, que es considerada como una prueba analítica que determina la presencia de nitritos y nitratos en una solución, si la prueba da positiva se podrá concluir que en la muestra obtenida del excremento de ganado bovino se haya la presencia de bacterias nitrificantes.

7.5 Bioensayos con Biofertilizantes y Fertilizantes Químicos con la planta de cilantro *Coriandrum sativum*

A partir del resultado del aislamiento de bacterias nitrificantes, se realizarán dos bioensayos, uno con el biofertilizante obtenido del excremento del ganado bovino y el otro con fertilizantes químicos, esto se aplicará a un cultivo de cilantro *Coriandrum sativum*, para ello se tomarán tres macetas por triplicado ubicadas en el mismo lugar para que comparta las mismas condiciones ambientales. El seguimiento se realizará por un periodo de dos meses, anotando en una tabla predeterminada el crecimiento de las plantas en cm y peso en g de la biomasa, con el fin de evidenciar la eficacia que tiene el uso de biofertilizantes en comparación a los que no se les suministro ningún tipo de compuesto.

7.6 Diseño del Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino.

Como resultado del proceso de investigación, se diseña y elabora un manual titulado *Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino*, con el fin de facilitar el proceso de aprendizaje de la población en la temática y que la información contenida en el manual sea de fácil comprensión. Por lo anterior se tomará como material de estudio el excremento de ganado bovino Holstein, que según la bibliografía consultada posee propiedades físico químicas para promover el crecimiento de bacterias que realizan sus procesos de crecimiento y desarrollo a partir de nitratos y nitritos.

El manual en su estructura estará conformado por una portada donde se detalla el título del trabajo, su autor y las personas que colaboraron en el proceso de elaboración, posterior a esto se plantea el índice en el cual se detalla los contenidos del manual por medio de subtítulos, por otra parte, el siguiente apartado se caracterizará por contener los objetivos del manual (un general y tres específicos), igualmente se realizará una breve introducción a los contenidos principales del trabajo con figuras ilustrativas y se detallarán algunos aspectos teóricos de la investigación, a continuación se realizará el desarrollo de las temáticas por medio de temas y subtemas, en donde se utilizarán las metodologías en las que se basó el Trabajo de Grado y se explicarán de forma clara y concisa los procedimientos realizados y bibliografía.

7.7 Validación del manual

El resultado del manual práctico se validará con estudiantes de tercer semestre de grupo dos pertenecientes a la materia Sistemas Microbianos que están inscritos a la Licenciatura en Biología de la Universidad Pedagógica Nacional. Esto se realizará por medio de unas preguntas orientadoras en la plataforma forms, donde se validará la pertinencia de la actividad planteada por medio del manual, se contempla tener un espacio con los educandos donde se muestre el manual y se realicen algunas prácticas de laboratorio que allí estén descritas.

8.Resultados y Análisis

8.1 Toma de muestra en el área de estudio.

Para ello se utilizó la metodología de muestreo aleatorio simple. Esta técnica consistía en tomar de distintos excrementos ubicados en posiciones diferentes dentro del recinto, pequeñas porciones de los desechos de los bovinos con la ayuda de guantes y pala, para evitar contaminar las muestras. Las porciones recolectadas tenían un peso aproximado de 100 g, que se guardó en bolsas oscuras y fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Pedagógica Nacional para ser procesadas.



Figura 8: *Ejemplar de la raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022)*



Figura 9: *Excremento de un ejemplar de raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022)*



Figura 10: *grupo de ejemplares de raza Holstein tomada por Johann Bohórquez (2022)*

8.1.1 Grafica de cantidad de ganado de la Raza Holstein y su distribución sexual.

Tabla 1: *Cantidad de organismos de la Raza Holstein y distribución sexual.*

Tabla de cantidad de organismos de la Raza Holstein y su distribución sexual	
Sexo	Cantidad de individuos
Macho	4
Hembra	10
Total, de Organismos:	14

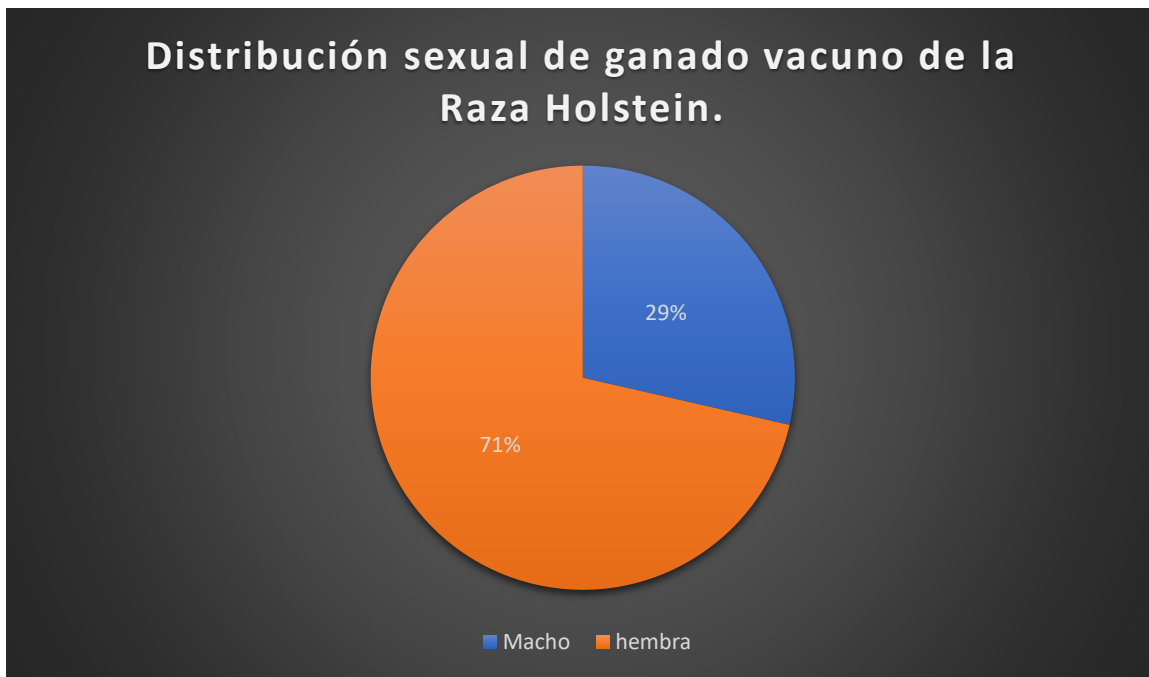


Figura 11: *Distribución sexual de Ganado de la Raza Holstein.*

De la tabla 1 y gráfica 11 presentada anteriormente se puede evidenciar que la mayoría de los organismos de raza Holstein presentes en el lugar de muestreo son hembras que equivalen a un 71% de la población total de bovinos, a comparación del 29% de los machos presentes en el lugar de estudio. Esto se podría explicar de acuerdo con el fin comercial del lugar donde se realizó la investigación, debido a que las hembras producen leche y ello mejora la cantidad de producto para la venta, en cambio los machos son necesarios para asegurar la descendencia.

8.1.2 Estadios de los organismos

Los bovinos se caracterizan por presentar diferentes etapas de desarrollo durante su proceso de crecimiento, por lo tanto, para tener un mejor estudio de la población, se decidió realizar una tabla donde se evidenciará en que fases de desarrollo en las que se encuentran los organismos presentes en la zona de estudio.

Tabla 2: Estadios de los organismos

Fase de crecimiento	Cantidad de individuos
Terneros (desde los 0 hasta los 12 meses de edad)	3
Vaquillas o Torillos (desde los 13 hasta los 23 meses de edad)	2
vaca o toro	9
Total, de organismos	14

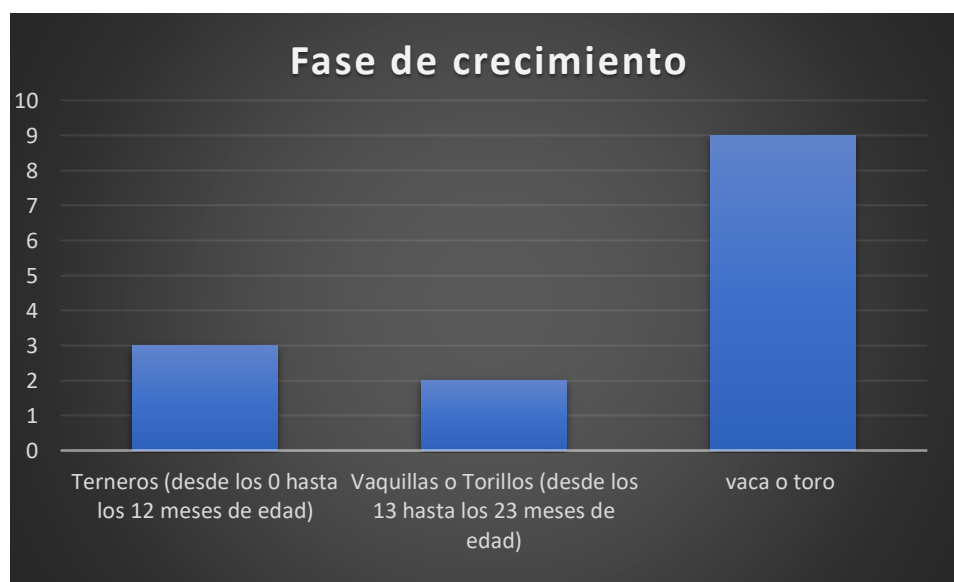


Figura 12: Estadios de los organismos

8.1.3 Alimentación de la población de Bovinos de raza Holstein

De acuerdo con una charla realizada con el Dueño del lugar de estudio, se indago sobre los diferentes alimentos que se les proporcionaba a sus ejemplares en un día cotidiano, comentando que la mayoría del alimento que se les proporcionaba era pasto o follajes verdes que se dieran en la zona, para ello trataba de mover a su ganado por distintos sitios dentro del potrero y del barrio para que pudieran conseguir una mayor cantidad de alimento, además, indico que ocasionalmente les brinda heno que consigue por la zona y complementa su alimentación con concentrado para vacas.

8.2 Aislamiento primario de bacterias nitrificantes.

Para el desarrollo de la siguiente etapa se realizó una metodología para promover el crecimiento de bacterias presentes en la muestra de desechos que se tomó en campo, para ello fue necesario utilizar un Erlenmeyer con 90 mL de solución salina (0.85% NaCl) estéril en donde se agregó 10 g del excremento. Este proceso se dejó reposar por un periodo de tiempo de 7 días, con ello se obtuvo una muestra diluida a 10^{-1} que se utilizó posteriormente para realizar las diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} que se usarían para sembrar las bacterias en medios de cultivo selectivo donde solo crecieran poblaciones de bacterias nitrificantes.

8.2.1 Medios de cultivos selectivos SWA y MCA

Teniendo en cuenta que uno de los objetivos del Trabajo de Grado es aislar bacterias nitrificantes a partir de excremento de ganado bovino, se hace necesario utilizar un método que solo permita la proliferación de bacterias nitrificantes de la muestra que se obtuvo, por lo tanto, se utilizaron dos tipos de medios de cultivos selectivos que permitieran que solo las bacterias nitrificantes pudieran realizar sus procesos de crecimiento y desarrollo.

Tabla 3: composición de medios de cultivos selectivos.

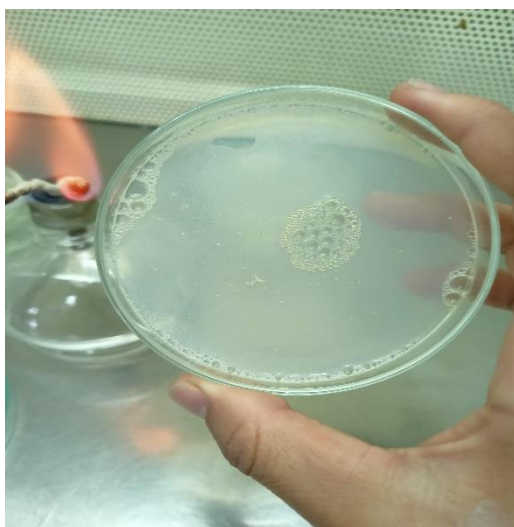
Composición medios de Cultivo selectivos.	
Medio SWA	Medio MCA
(NH ₄) ₂ SO ₄ (sulfato de amonio) 0.5 g, KH ₂ PO ₄ (Fosfato monopotásico) 0.2 g, CaCl ₂ ·2H ₂ O (Cloruro de calcio) MgSO ₄ ·7H ₂ O (Sulfato de magnesio hepta hidratado) 0.04 g, Fe-EDTA 0.5 mg, rojo fenol 0.5 mg, solución de elementos traza 10 mL, agua destilada 1 L y agar-agar de 20 g.	Medio de Cultivo (MCA) composición g/L: NaHCO ₃ (Bicarbonato de sodio) 0.5 g, MgSO ₄ (Sulfato de magnesio) 0.1 g, (NH ₄) ₂ SO ₄ (sulfato de amonio) 0.5 g, KH ₂ PO ₄ (Fosfato de disodio) 0.7 g, Na ₂ HPO ₄ (Fosfato de sodio) 13.5 g, CaCl ₂ ·2H ₂ O (Cloruro de calcio) 0.18 g, FeCl ₃ ·6H ₂ O (Cloruro de hierro) 0.014 g, Agar-agar 20 g.

8.3 Conteo UFC de muestra de excremento de Ganado Bovino (EGB) en el medio de cultivo SWA

Después de siete días, se realizó un conteo de UFC, para ello primero se sacó el área de las cuatro cajas de Petri (10^{-2} y 10^{-3}), dando como resultado 64 cm^2 , para cada caja.

Tabla 4. Área de caja de Petri

Área de la caja de Petri	64 cm^2
--------------------------	-------------------



Se contó las colonias presentes en las cajas de Petri de 10^{-2} dando como resultado en la primera caja 0 UFC/EGB circulares, 0 UFC/EGB irregulares, 100 UFC/EGB puntiformes y 0 UFC/EGB rizoides, dando un total de 100 UFC/EGB.

Figura 13: Caja de Petri con cultivo SWA, diluido 10^{-2} tomada por Johann Bohórquez



Se contó las colonias presentes en las cajas de Petri de 10^{-3} dando como resultado en la primera caja 0 UFC/EGB circulares, 0 UFC/EGB irregulares, 75 UFC/EGB puntiformes y 0 UFC/EGB rizoides, dando un total de 75 UFC/EGB.

Figura 14: Caja de Petri con cultivo SWA, diluido 10^{-3} tomada por Johann Bohórquez

Tabla 5: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA

Dilución	Circulares	Irregulares	Puntiforme	Rizoides	Total, UFC/ g-suelo
Caja 1 de 10 ⁻²	0	0	100 x10 ⁻² UFC/ g- suelo	0	100 x10 ⁻² UFC/ g- suelo
Caja 2 de 10 ⁻³	0	0	75x 10 ⁻³ UFC/ g- suelo	0	75 x10 ⁻³ UFC/ g- suelo

De la anterior tabla se puede concluir que en ninguna de las dos diluciones que se realizaron se encontraron bacterias de forma circular, irregular o rizoide. Además, se visualiza que estas bacterias circulares proliferaron por toda el área de las cajas de Petri de forma aleatoria, no presenta un olor en particular y la coloración de la colonia de bacterias nitrificantes es blanco en forma de puntos.

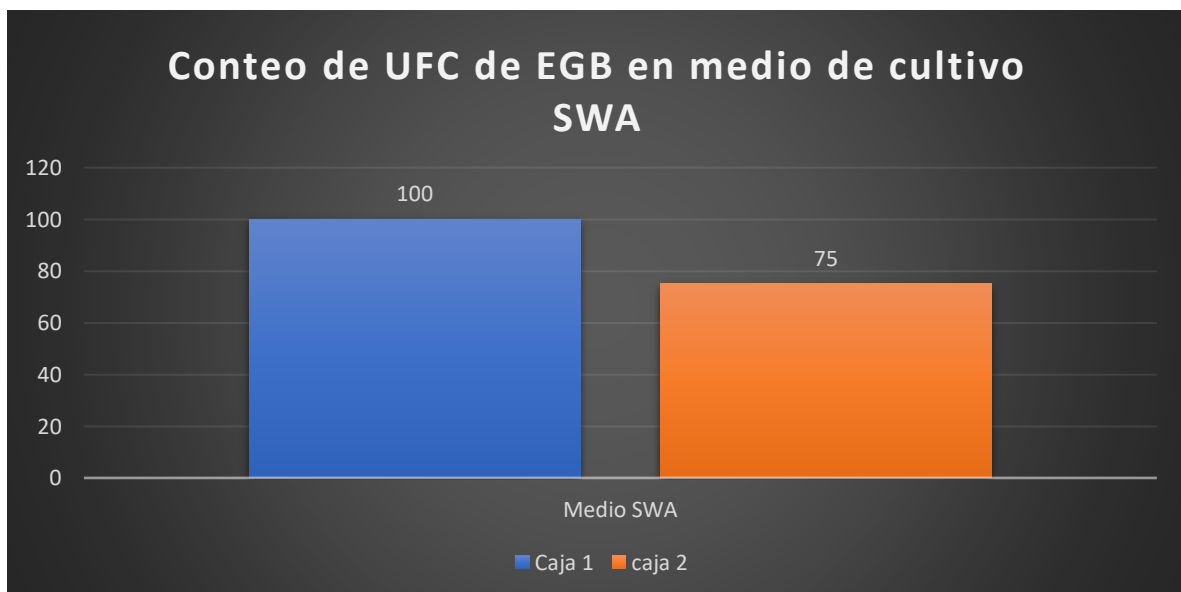
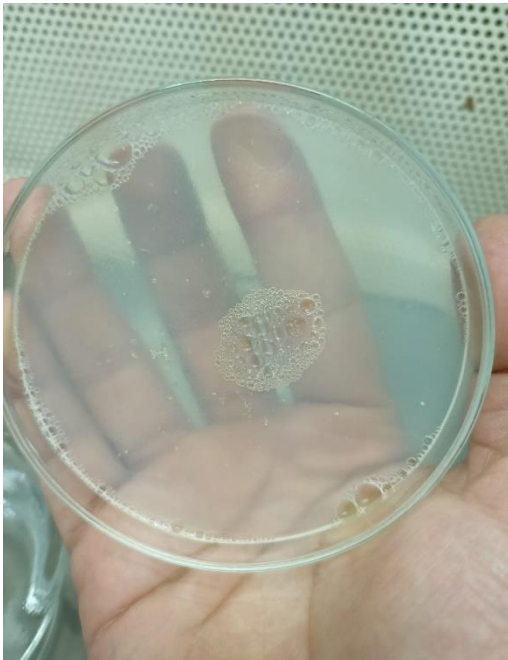


Figura 15: *Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA.*

En la anterior figura se presenta una comparación de la cantidad de bacterias nitrificantes presentes en las cajas de Petri con medio de cultivo selectivo SWA, donde se evidencia que en la caja con disolución de 10^{-2} presenta una mayor cantidad de UFC a comparación de la disolución de 10^{-3} , con una diferencia de 25 UFC.

8.4 Conteo UFC de muestra de excremento de Ganado Bovino (EGB) en el medio de cultivo MCA



Se contó las colonias presentes en las cajas de Petri de 10^{-2} dando como resultado en la primera caja 0 UFC/EGB circulares, 0 UFC/ EGB irregulares, 150 UFC/ EGB puntiformes y 0 UFC/ EGB rizoides, dando un total de 150 UFC/ EGB

Figura 16: *Caja de Petri con cultivo MCA, diluido 10^{-2} tomada por Johann Bohórquez*



Se contó las colonias presentes en las cajas de Petri de 10^{-3} dando como resultado en la primera caja 0 UFC/EGB circulares, 0 UFC/EGB irregulares, 106 UFC/ EGB puntiformes y 0 UFC/ EGB rizoides, dando un total de 106 UFC/ EGB.

Figura 17: Caja de Petri con cultivo MCA, diluido 10^{-3} tomada por Johann Bohórquez

Tabla 6: Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo MCA

Dilución	Circulares	Irregulares	Puntiforme	Rizoides	Total, UFC/ g- suelo
Caja 1 de 10^{-2}	0	0	150×10^{-2} UFC/ g- suelo	0	150×10^{-2} UFC/ g- suelo
Caja 2 de 10^{-3}	0	0	106×10^{-3} UFC/ g- suelo	0	106×10^{-3} UFC/ g- suelo

A partir de la tabla 6, se puede concluir que en ninguna de las dos cajas de Petri se logran evidenciar UFC con formas circulares, irregulares y rizoides, teniendo en su mayoría colonias puntiformes en un 100%. Además, en la disolución 10^{-2} se observan una mayor cantidad de UFC en comparación a la caja de Petri de 10^{-3} , es importante mencionar que el color de las colonias era blanco sin ningún olor en particular y distribuidas de forma aleatoria en la caja de Petri.

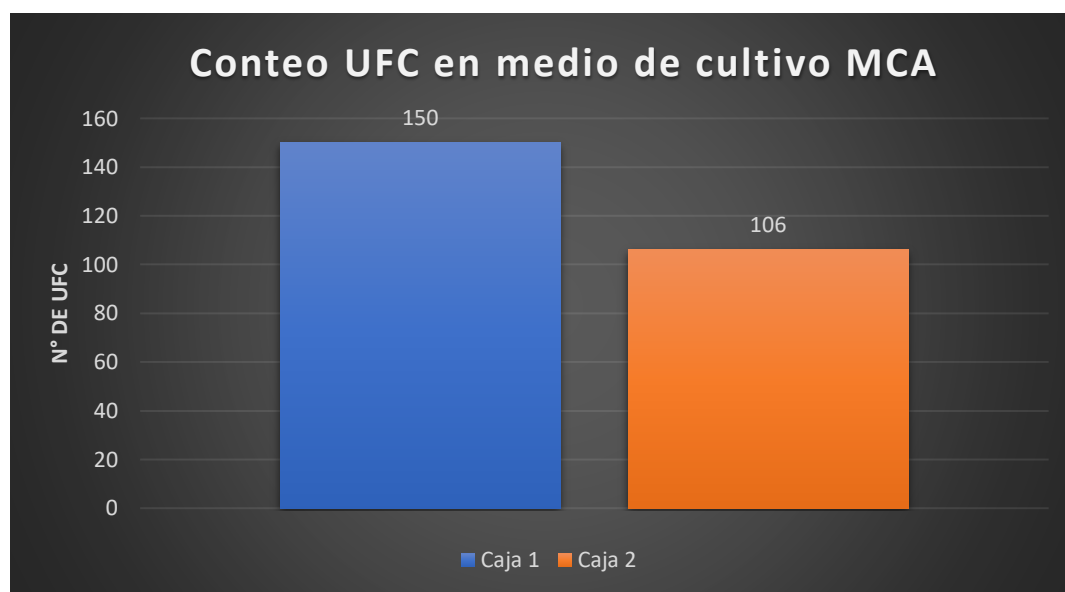


Figura 18: *Conteo de UFC de EGB en medio de cultivo SWA.*

En la figura 18 se presenta una comparación de la cantidad de bacterias nitrificantes presentes en las cajas de Petri con medio de cultivo selectivo MCA, donde se evidencia que en la caja con disolución de 10^{-2} presenta una mayor cantidad de UFC a comparación de la disolución de 10^{-3} , con una diferencia de 44 UFC.

8.5 Comparación UFC medio de cultivo SWA y MCA.

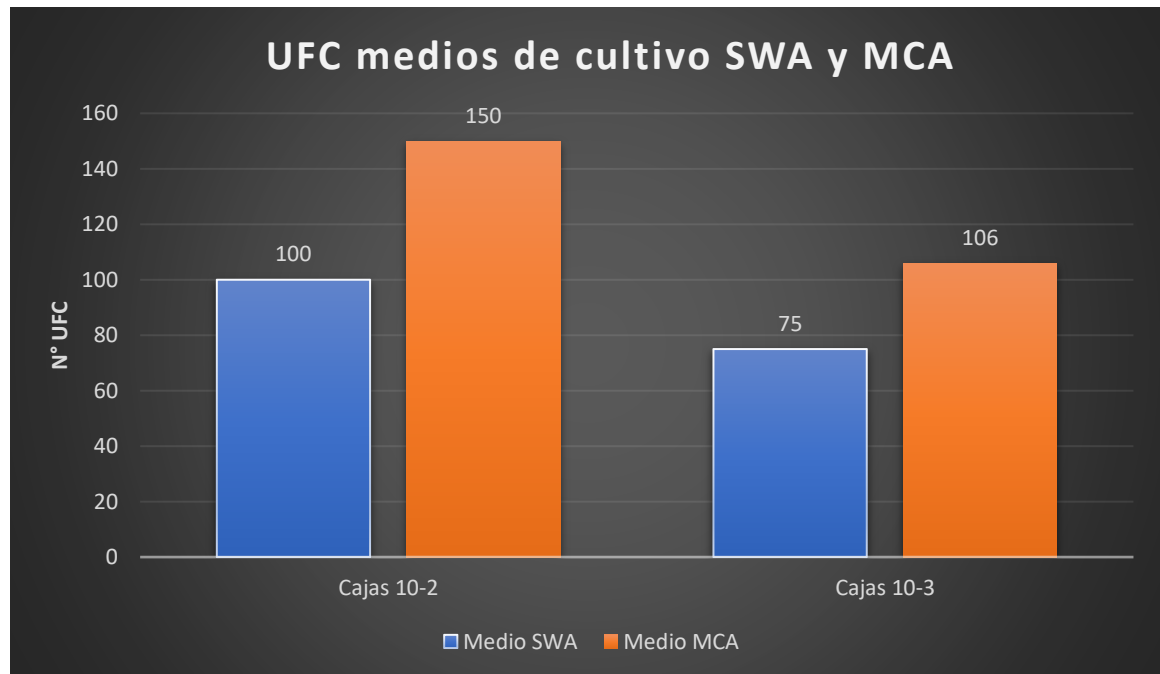


Figura 19: Comparación UFC medios de cultivo SWA y MCA

De acuerdo con la figura 19, se puede evidenciar que a comparación del medio de cultivo SWA, MCA tiene una mayor cantidad de UFC en las dos diluciones que se realizaron, en 10^{-2} se observa una diferencia de 50 colonias y en 10^{-3} es de 31 UFC, por lo anterior se puede deducir que en el medio de cultivo MCA las bacterias nitrificantes tienden a crecer en mayor cantidad.

8.6 Observación a microscopio.

Al momento de observar en microscopio se realizó tomando como referencia los medios de cultivo selectivo SWA y MCA con dilución 10^{-2} , donde se pudo identificar a través del análisis de las imágenes la presencia de bacterias con forma de cocos gram positivos en los dos medios de cultivo selectivo utilizados en las muestras. Para realizar este procedimiento antes fue necesario realizar la fijación de la muestra en portaobjetos y con ayuda de un mechero, posterior a esto se procede con la práctica de laboratorio donde se realizó la tinción de Gram.

Cuando se observa el medio de cultivo SWA se evidencia una diversidad de poblaciones de bacterias presentes en el medio de cultivo selectivo, en el cual se logra identificar bacterias

Gram positivas, con forma de coco dispersas por toda la muestra que se fijó en el portaobjetos. Además, es importante destacar pequeñas UFC en la imagen que se observan mas unidas que las otras. (ver figura 20)

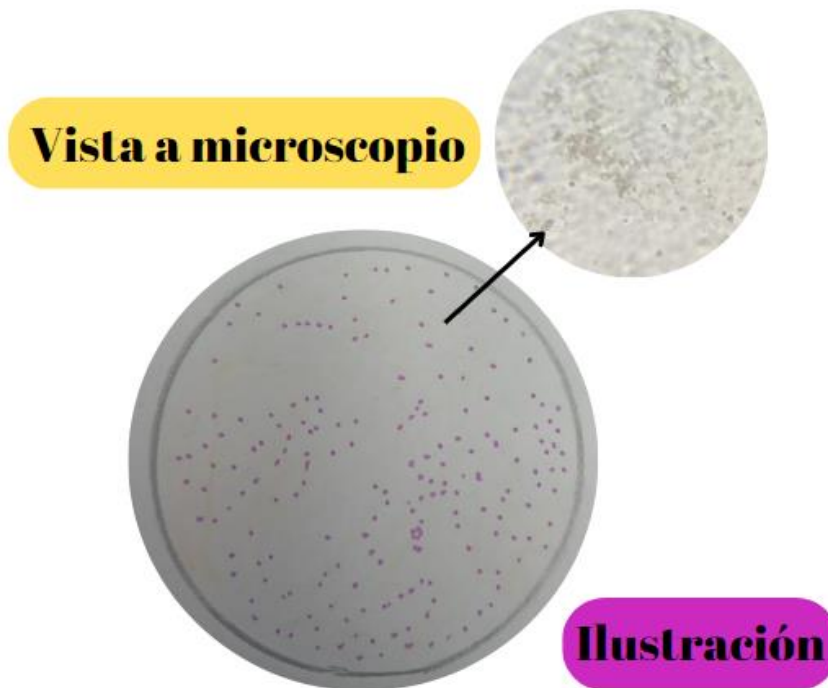


Figura 20: Ilustración Bacterias nitrificantes medio de cultivo SWA.

Por otro lado, cuando se toma como referencia a la muestra obtenida con el medio selectivo MCA, se logra evidenciar bacterias con forma de cocos dispersas por toda la muestra fijada y que teniendo en cuenta la tinción de Gram se observa que son Gram positivas. Las bacterias presentes en este medio se caracterizan por tener una mayor abundancia y estar menos dispersas las unas a las otras.

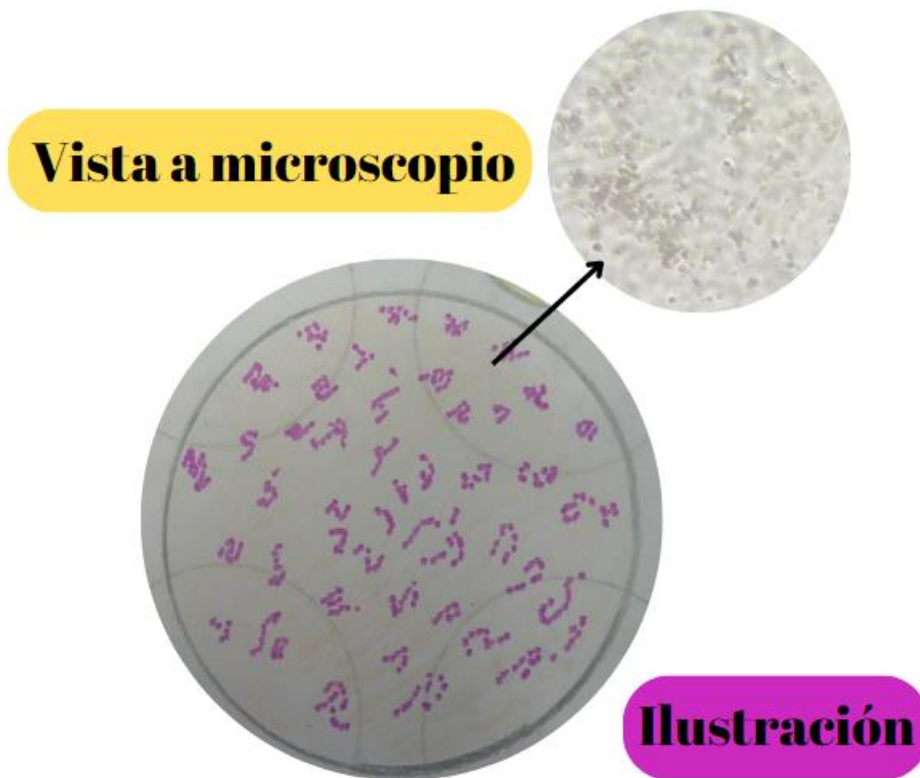


Figura 21: Ilustración Bacterias nitrificantes en medio de cultivo MCA.

De acuerdo con los resultados obtenidos a través de la observación en microscopio de los medios de cultivo con dilución 10^{-2} , se observa que el medio selectivo MCA tiende a tener una mayor cantidad de UFC a comparación de la muestra tomada del medio SWA, además en las dos muestras se evidenció la presencia de bacterias Gram positivas con forma de cocos que dependiendo el medio se podían dispersar unas de las otras.

8.7 Bioensayo con Cilantro (*Coriandrum sativum*)

Para este apartado se sembraron cuatro macetas con semillas de cilantro, a dos de las plantas se les proporcionó una mezcla de 10 mL de agua destilada que previamente se inoculó con Bacterias Nitrificantes presentes en excremento de ganado bovino, los microorganismos se obtuvieron de los aislamientos realizados en tubos de ensayos. Además, se inició un control por un periodo de ocho semanas, donde se observaron los cambios físicos que

presentaban las plantas en un tiempo determinado, analizando el promedio del crecimiento vertical de los tallos presentes en cada maceta, el peso de la raíz y número de hojas.

8.7.1 Muestra de Bacterias Nitrificantes

Con el fin de evidenciar los cambios morfológicos al añadir una mezcla de agua destilada previamente infectada con bacterias, se procede a realizar el aislamiento secundario de las cajas de Petri con bacterias nitrificantes, para ello se deben utilizar diez tubos de ensayo, donde se verterán los medios de 10 mL de medio de cultivo selectivo SWA Y MCA, que se dejarán a temperatura ambiente por un tiempo determinado de siete días, para promover su crecimiento y desarrollo. Posterior a esto, se adicionará 10 mL de agua destilada en los tubos de ensayo y con ayuda del Aza microbiológica se tomará la muestra de la bacteria y se mezclará con la muestra de agua, que se adicionará a dos de las macetas.

8.7.2 Promedio crecimiento vertical tallos de cilantro.

La medición del promedio de crecimiento vertical de los tallos de cilantro se realizó por un periodo de 8 semanas en donde se midió en cm la altura de los tallos presentes en cada maceta tomando como referencia desde la parte terminal del tallo y el inicio de la raíz, posterior a esto, se toma un promedio general por medio de la suma de la altura de los tallos y dividiéndolo por el total. Para ello se realizaron tablas con los datos obtenidos cada semana y se elaboraron gráficas para analizar y comparar los datos obtenidos de las macetas restantes. Finalmente, los datos obtenidos de las macetas con poblaciones de bacterias nitrificantes se les sacó promedio, igual con el maceta sin poblaciones de bacterias.

Tabla 7. Datos promedio del crecimiento vertical en centímetros de tallos de cilantro.

Semana	Maceta con poblaciones de bacterias nitrificantes M(cb)	Maceta (sin bacterias) M(sb)
Semana 1	0.0	0.0
Semana 2	0.1	0.1
Semana 3	2.2	1.3
Semana 4	3.0	2.5

Semana 5	3.5	3.2
Semana 6	4.7	3.7
Semana 7	5.15	4.12
Semana 8	6.25	5.6

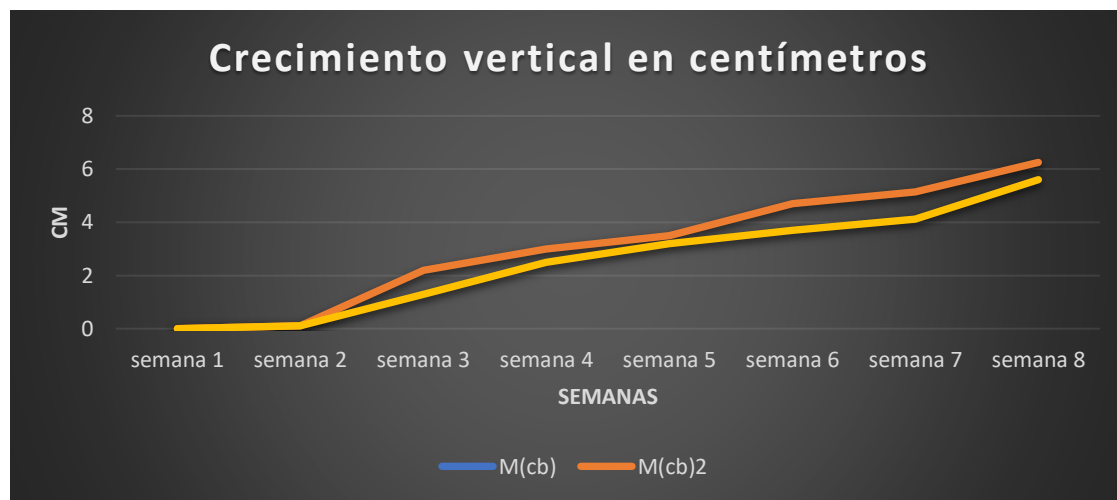


Figura 22: Comparativo Datos promedio del crecimiento vertical en centímetros de tallos de cilantro.

De acuerdo con la figura 22, se puede evidenciar que en la primera semana no se presentó crecimiento de los tallos de ninguna de las macetas, esto se debe a que en ese momento en ninguno de los ensayos se visualizó que las semillas germinaran, en la segunda semana, en las macetas M(cb) y M(sb) germinaron por lo tanto se pudo empezar a tomar el promedio del crecimiento de los tallos, es importante mencionar que en las dos macetas se presentó un crecimiento de 0.1 cm, por otro lado la maceta M(sb) al momento de tomar las medidas aun no germinaba. Cabe señalar que las macetas se alojaron a temperatura ambiente en el mismo sitio, y en promedio se exponían al sol durante 5 horas diarias.

A partir de la tercera semana, las plantas presentaron un crecimiento mayor a comparación de las dos primeras semanas, en esta semana todas las plantas ya habían germinado y tenían en promedio un centímetro de crecimiento vertical en el tallo, sin embargo, desde esta semana se presentó una tendencia que seguiría hasta la semana 8, donde las macetas denominadas M(cb) crecieron mucho más a comparación de M(sb), es importante

recordar que M(cb), en la primera semana se les vertió la mezcla realizada con poblaciones de bacterias nitrificantes.

De acuerdo con MAGRAMA (2011)

El empleo de bacterias fijadoras de nitrógeno representa una gran oportunidad para la agricultura ya que el nitrógeno fijado en el suelo por las bacterias se encuentra disponible directamente justo en el lugar (rizosfera) donde es requerido, mientras que los fertilizantes inorgánicos aplicados al suelo sufren una pérdida de hasta el 50% debido a procesos naturales de lixiviación y desnitrificación. (Pág. 2)



A partir de lo anterior, se presenta una experiencia que es necesaria para comprender porque las macetas a las cuales se les proporciono una solución con poblaciones de bacterias nitrificantes crecieron con mayor rapidez, a comparación de los ensayos sin ningún tipo de biofertilizante. Esto se puede complementar teniendo en cuenta el marco teórico, donde se habla que la presencia de bacterias nitrificantes aumenta la proporción de nitritos y nitratos, lo que conlleva a un mayor crecimiento y desarrollo de la planta.

8.7.3 Peso de la biomasa del Cilantro.

El peso de cada biomasa de los bioensayos que se realizaron con el fin de conocer el crecimiento de cada una de las plantas en las macetas, para ello se retiró el follaje y la raíz de las plantas de cilantro y se pesaron en las balanzas, a los resultados obtenidos se les saco promedio, se organizaron en tablas de datos y se les realizo su respectivo gráfico.

Tabla 8: Promedio de peso de biomasa de cilantro

Bioensayo	Peso-promedio n=2	Foto
------------------	--------------------------	-------------

<p>Maceta con poblaciones de bacterias nitrificantes M(cb)</p>	<p>4.5 g</p>	
<p>Maceta (sin bacterias) M(sb)</p>	<p>3.5 g</p>	

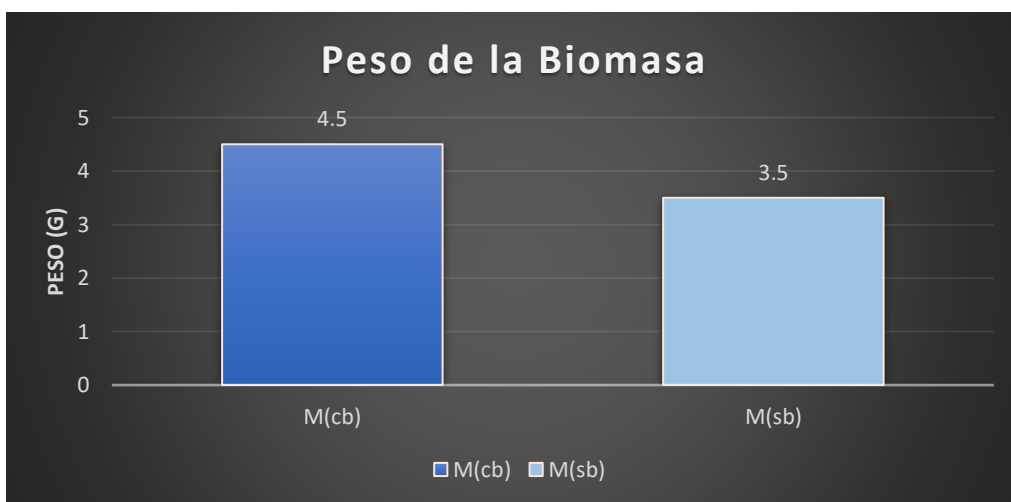


Figura 23: *Peso de la biomasa de los bioensayos M(cb): maceta con bacteria y M(sb): maceta sin bacteria.*

Teniendo en cuenta la anterior figura 23, se logra evidenciar el peso de la biomasa total en promedio de los bioensayos en un transcurso de ocho semanas, a partir de estos datos

se logra concluir que la maceta con poblaciones de bacterias nitrificantes al momento de pesarlas se obtuvo un peso de 4.5 g, a comparación de la maceta sin ningún compuesto que al finalizar el tiempo obtuvo un peso de 3.5 g. Cuando se comparan las dos macetas se denota una diferencia de 1 g, lo cual se puede atribuir a la presencia de bacterias nitrificantes en el primer bioensayo, ya que al tener mayor presencia se obtuvieron una cantidad mayor de nitritos y nitratos que la planta puede absorber para realizar sus procesos de crecimiento y desarrollo y de esta forma aumentar su biomasa total.

8.7.4 Número de hojas de bioensayo de cilantro.

Para el siguiente apartado es necesario plantear una metodología que permita calcular el número de hojas presentes en cada una de las macetas utilizadas en el bioensayo M(cb), y M(sb), para ello se utilizó una metodología manual que consiste en contar manualmente el número de hojas de cada planta de cilantro y registrarlos en una tabla de datos, por un periodo de tiempo de ocho semanas. Es importante tener en cuenta que las maceta M(cb) contiene una mezcla de poblaciones de bacterias nitrificantes obtenidas de una muestra de ganado bovino y M(sb) no tenían ningún tipo de biofertilizante.

Tabla 9: Datos de número de hojas de bioensayo de cilantro.

Semana	Maceta con poblaciones de bacterias nitrificantes M(cb) - número de hojas- N=2	Maceta (sin bacterias) M(sb) – Número de hojas N=2
Semana 1	0	0
Semana 2	1	0
Semana 3	5	2
Semana 4	16	7
Semana 5	21	15
Semana 6	23	18
Semana 7	27	20
Semana 8	29	23

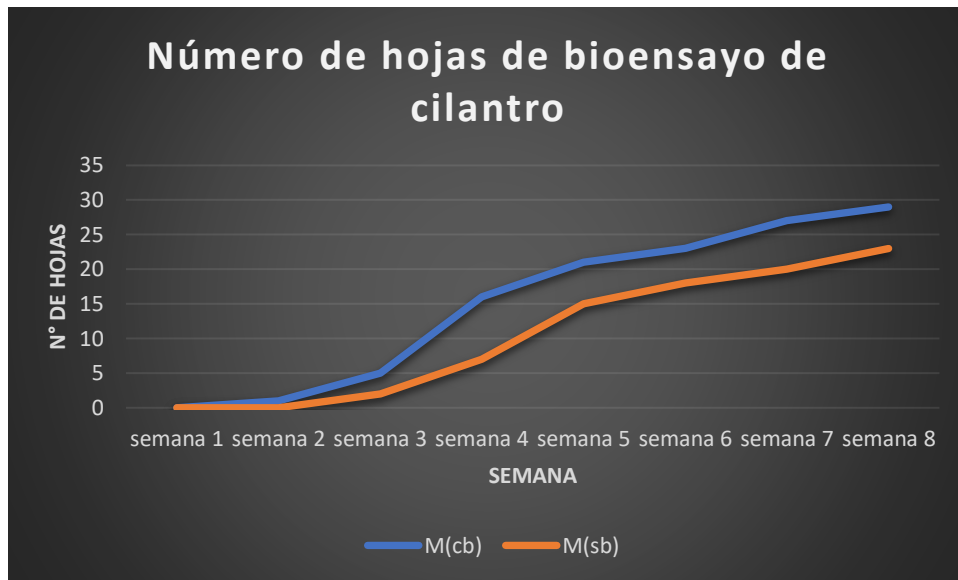


Figura 24. Comparativo Datos de número de hojas de bioensayo de cilantro.

De acuerdo con la figura 24, se puede evidenciar que en primera semana no hay presencia de hojas en ninguno de los ensayos, debido a que no habían germinado ninguna de ellas, en la segunda semana, aunque en una de macetas ya habían germinado en M(cb) se evidencio la presencia de una hoja. Teniendo en cuenta la literatura, la presencia de hojas en las plantas de cilantro tiene un periodo de tiempo que varía en 7 a 10 días después de la siembra, sin embargo, estas pueden tardar más o menos dependiendo de las condiciones ambientales del lugar. Finalmente es importante mencionar que la planta M(cb) tiene en su composición la mezcla con bacterias y que una hipótesis podría ser que al tener bacterias nitrificantes acelero su proceso de crecimiento y desarrollo.

A partir de la tercera semana se presentó un crecimiento exponencial en el número de hojas de todas las macetas, esto es directamente proporcional al promedio del crecimiento vertical de el tallo, sin embargo, es importante mencionar que las maceta M(cb), tuvo un mayor número de hojas durante varias semanas y al final del estudio presento más hojas que las demás macetas. Sin embargo, M(sb) aunque en las primeras semanas presento un bajo número de hojas, al momento de terminar las mediciones a comparación de las otras macetas tuvo un crecimiento considerable.

De acuerdo con la Universidad Nacional de la Plata (s.f) “Por medio de las hojas, las plantas realizan la fotosíntesis, respiran y producen los alimentos. La respiración se produce

durante el día y la noche; para ello, las plantas toman el oxígeno del aire y desprenden dióxido de carbono.” (Pág.2). De lo anterior, se puede concluir que, a mayor número de hojas, la planta de cilantro podrá realizar procesos como fotosíntesis y respiración de manera más rápida comparándola con otros ensayos con menor número de hojas por tallo. Por otra parte, teniendo en cuenta que las plantas con poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino presentaban un mayor número de hojas en menos semanas.

8.8 Metodología pedagógica.

Teniendo en cuenta el objetivo específico de este trabajo de grado que propone elaborar un manual de prácticas de cultivo como estrategia pedagógica con el fin de implementarlo con educandos de tercer semestre de la licenciatura en biología, por tal motivo se elabora un manual titulado: *Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino*, el cual se consolidó a partir de las experiencias del aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes realizadas en el presente documento, además se propone un apartado metodológico donde se plantean distintas prácticas de laboratorio, con el fin de que al finalizar la práctica el educando pueda proponer un bioensayo en donde ponga a prueba hipótesis relacionadas con el uso de biofertilizantes a partir de excrementos de ganado bovino. Finalmente, se propone un cuestionario que tendrá como objetivo validar la eficacia del manual, a partir de las experiencias de los estudiantes de tercer semestre que cursan la materia de sistemas microbianos en el semestre 2023-1.

8.8.1 Diseño de la Manual: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino.

Ver manual: https://www.canva.com/design/DAFcb-01KmQ/BbZxdAR15c_lZzKwpF3Wqg/edit?utm_content=DAFcb-01KmQ&utm_campaign=designshare&utm_medium=link2&utm_source=sharebutton

Teniendo en cuenta los autores retomados en el marco teórico del presente documento se planteó un diseño de manual acorde a la bibliografía consultada y en base a las metodologías utilizadas en el desarrollo del trabajo de grado. Sin embargo, a comparación de un manual tradicional se optó por utilizar un diseño mucho más didáctico y atractivo para la población de estudiantes, por ello en el transcurso del manual se retomaron imágenes y tablas de información derivadas de las prácticas de laboratorio realizadas en la primera fase del trabajo, además se realizaron diagramas de flujo donde se explicaron las metodologías necesarias para el desarrollo de las practicas. Finalmente, es importante mencionar que el manual fue construido a través de la herramienta digital Canva. (ver figura 25).

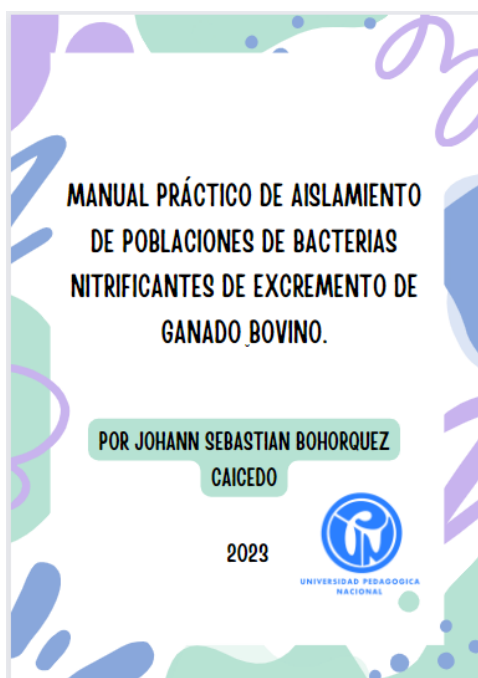


Figura 25: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Portada, elaborado por Johann Caicedo (2023).

El diseño del manual está pensado para ser trabajado en una población de carácter universitario donde se integren las temáticas presentadas en el documento, con los temas

vistos en la materia de Sistemas microbianos, planteando un conocimiento interdisciplinar que contribuya a la formación de docentes investigadores en el área de la educación. En el primer apartado, se realiza una introducción donde se plantean situaciones claves para entender la importancia de llevar a cabo la temática que se quiere trabajar en base a consultas bibliográficas de distintos autores y sus aportes para el uso de biofertilizantes. En el segundo apartado, se contemplan un objetivo general y dos específicos que permitirán al autor comprender los productos esperados del manual y algunas actividades necesarias para realizarlos. (Ver figura 26)



Figura 26: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Introducción y objetivos, elaborado por Johann Caicedo (2023).

En el tercer apartado se realiza una justificación donde se plantean las razones por las cuales es importante implementar este tipo de prácticas para el docente en formación, además se hace referencia a algunos datos tomados de distintos autores donde se presentan razones por las cuales es importante y pertinente utilizar biofertilizantes en las prácticas agrícolas, finalmente es importante aclarar que este tipo de practica aportan al maestro en formación,

ya que le brinda bases metodológicas que podrá usar en distintos sectores educativos y plantear discusiones con distintas comunidades. (ver figura 27)

Justificación

La presente cartilla se enfoca en realizar un proceso de aislamiento de poblaciones de bacterias presentes en estiércol de ganado bovino con fin de promover el uso de biofertilizantes. Estos son fundamentales para la industria agrícola, porque mejoran las características de producción en las cosechas y son de fácil implementación para los agricultores, con costos muy bajos que benefician al precio de producción de algunos alimentos de uso cotidiano, como también de plantas de tipo industrial, su principal objetivo es contribuir al crecimiento y desarrollo de las plantas, aportando nutrientes que utilizan para disminuir el tiempo de crecimiento y de esta forma acelerar la producción agrícola obteniendo mejores beneficios.

Es importante señalar que en Colombia según el ICA en el año 2018 la población de Bovinos era de 28.245.262, por lo tanto, la producción de excremento de este ganado es alta, ya que algunos de estos organismos defecan en promedio 10 veces al día.

Teniendo en cuenta que este excremento contiene una gran diversidad de bacterias del Ciclo del Nitrógeno que se desarrollan en los intestinos de estos rumiantes contribuyen al crecimiento de las plantas, ya que serían abonos de tipo orgánicos, son de fácil acceso para la gran mayoría de los agricultores y se convierte en una alternativa fácil y barata que disminuye el uso de fertilizantes químicos.

Por tal motivo, este ejercicio investigativo promueve el desarrollo de habilidades en la implementación y formulación de proyectos de investigación que son fundamentales en el proceso de formación de los maestros. Por otra parte, esta cartilla aporta a la enseñanza de la biología en el sentido que fomenta el uso responsable de los biofertilizantes enfocándose en los beneficios que trae para las plantas y el suelo. Además, motiva el estudio de los microorganismos enfocándose en una población rural, que por lo general tiene un mayor contacto con el tema agrícola y por esta experiencia conocer los beneficios que conlleva la aplicación de este tipo de biofertilizantes.

Tomado por: Johann Bohórquez 2022

Figura 27: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Justificación, elaborado por Johann Caicedo (2023).

El cuarto apartado presenta algunos conceptos teóricos que son necesarios para comprender algunos apartados del manual, es preciso que los maestros en formación conozcan de las temáticas que pretenden trabajar con los educandos, por lo tanto, se plantearon palabras claves como: fertilizantes, fertilizantes químicos, fertilizantes orgánicos, biofertilizantes, bacterias (enfocado a las poblaciones nitrificantes) y la fijación biológica del nitrógeno). Todos estos elementos son claves para entender las prácticas que se plantearán en el siguiente apartado. (ver figura 28)

Conceptos generales

Fertilizantes: Flores J (2018) Se denomina "fertilizante o abono a las sustancias orgánicas o inorgánicas que contienen nutrientes en formas asimilables por las plantas, que mantienen o aumentan los contenidos de estos elementos en el suelo, que mejoran la calidad del sustrato a nivel nutricional y estimulan el crecimiento de las plantas." (Pág. 2). De acuerdo con esto, son sustancias con nutrientes asimilables para las plantas que promueven su crecimiento y desarrollo, disminuyendo el tiempo de producción que es utilizado en la industria agrícola.

Fertilizantes Orgánicos: para Garro J (2017) los fertilizantes orgánicos "son sustancias de origen vegetal o animal que se encuentra en el suelo, cuando proviene de plantas estará conformada por hojas, troncos y raíces, o bien al originarse de animales e incluso microorganismos, por lo que estará formada por cuerpos muertos y sus excretas" (pág. 20). 

Fertilizantes Químicos: son sustancias de origen sintético, por lo tanto, son elaborados artificialmente y están compuestos por sales minerales de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK). En la industria se conocen dos tipos: simples, solo contienen uno de estos elementos y compuestos: que contienen más de uno de estos elementos (Flores J 2018). 

Biofertilizantes: para Flores J (2018) Es un fertilizante biológico de origen natural que proporciona a las plantas todos los nutrientes que requieren y mejoran la calidad del suelo creando un nicho microbiológico. Teniendo en cuenta lo anterior para Afanador L (2017) son una sustancia que "contiene microorganismos vivos que, al ser aplicada a semillas, superficies de plantas o suelo, colonizan la rizósfera o el interior de la planta y promueve su crecimiento aumentando el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios".(pág. 2). 

Figura 28: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Conceptos generales, elaborado por Johann Caicedo (2023).

El quinto apartado del manual presenta la metodología del presente trabajo de investigación, para ello es necesario determinar una ruta metodológica que establezca los procesos necesarios para realizar el aislamiento de poblaciones de Bacterias Nitrificantes a partir de excremento de ganado, por ello, se describirán las fases, técnicas e instrumentos que servirán para la recolección de datos y los análisis correspondientes. Teniendo en cuenta lo anterior, se proponen cinco fases: Fase 1: Recolección y preparación de Muestra de excremento de ganado bovino de raza Holstein; Fase 2: Preparación de medios de cultivo selectivo SWA y MCA, y aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de muestra de ganado bovino; se 3: Conteo de Unidades Formadoras de colonias (UFC), Tinción de Gram y vista al microscopio; Fase 4: Asimiento secundario en tubos de ensayo y preparación de mezcla para emplear en el bioensayo; y Fase 5: Planteamiento de bioensayo y secuencia de estudio.

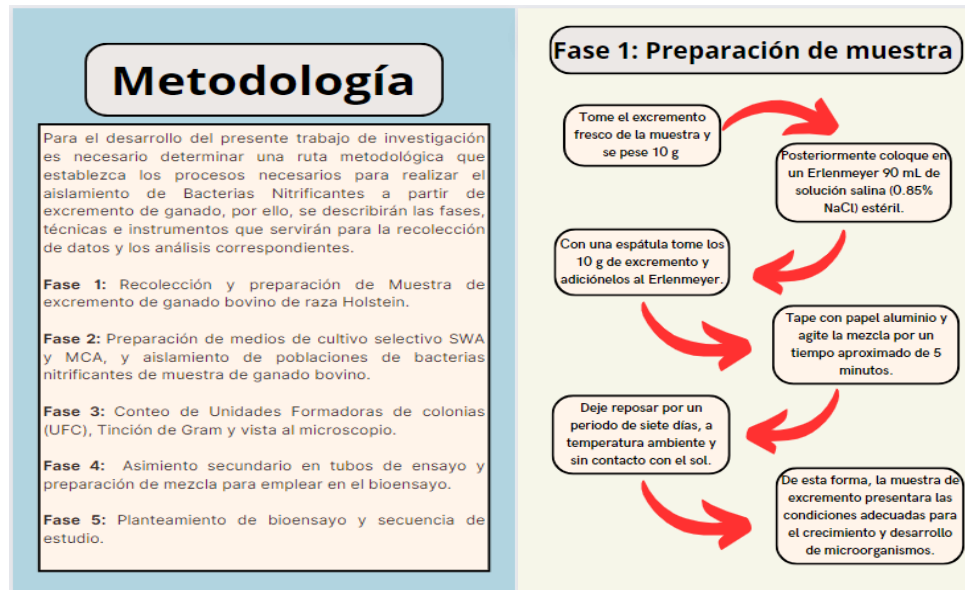


Figura 29: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología.

Además, para este apartado se decidió utilizar esquemas conceptuales para explicar cada una de las fases, con el objetivo de facilitar la enseñanza de algunos de los conceptos planteados en el marco teórico y de esta forma la persona que realice las prácticas de laboratorio tendrá la posibilidad de seguir cada uno de los esquemas para facilitar su desarrollo.

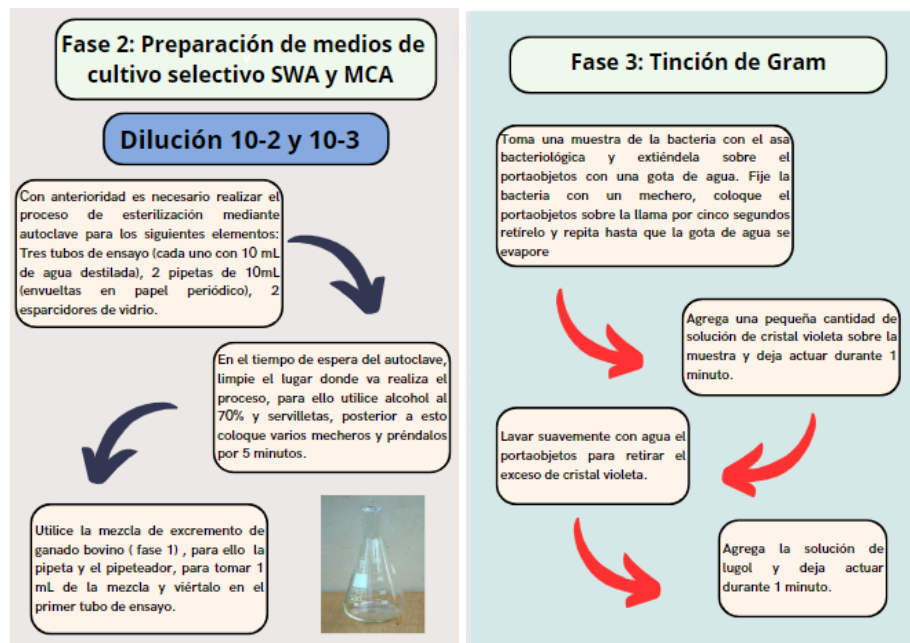


Figura 30: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología.

Por otra parte, se plantean los bioensayos a partir del resultado del aislamiento de bacterias nitrificantes, se realizarán dos bioensayos, uno con el biofertilizante obtenido del excremento del ganado bovino y el otro con fertilizantes químicos, esto se aplicará a un cultivo de cilantro *Coriandrum sativum*, para ello se tomarán tres macetas por triplicado ubicadas en el mismo lugar para que comparta las mismas condiciones ambientales. El seguimiento se realizará cada 5 días, anotando en una tabla predeterminada el crecimiento de las plantas en cm y peso en g del follaje, con el fin de evidenciar la eficacia que tiene el uso de biofertilizantes en comparación a los fertilizantes químicos.

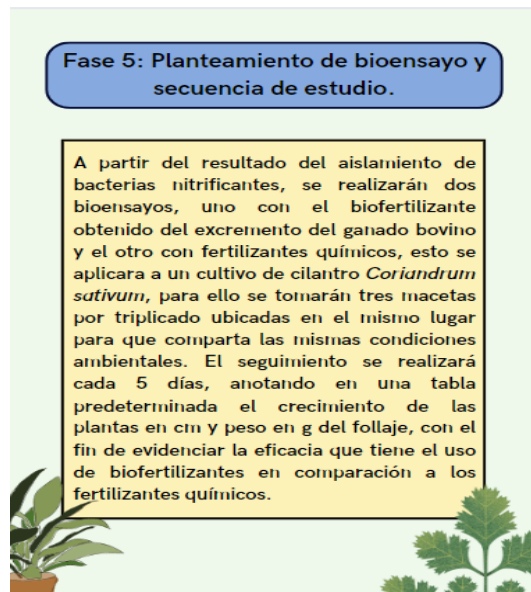


Figura 31: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Metodología (fase 5), Elaborado por Johann Caicedo (2023).

Finalmente, el sexto apartado tiene en cuenta las preguntas que se realizó con la población de validación del manual (Estudiantes de tercer semestre de la licenciatura en Biología de la Universidad Pedagógica Nacional) y de igual manera la bibliografía necesaria para la realización del manual.

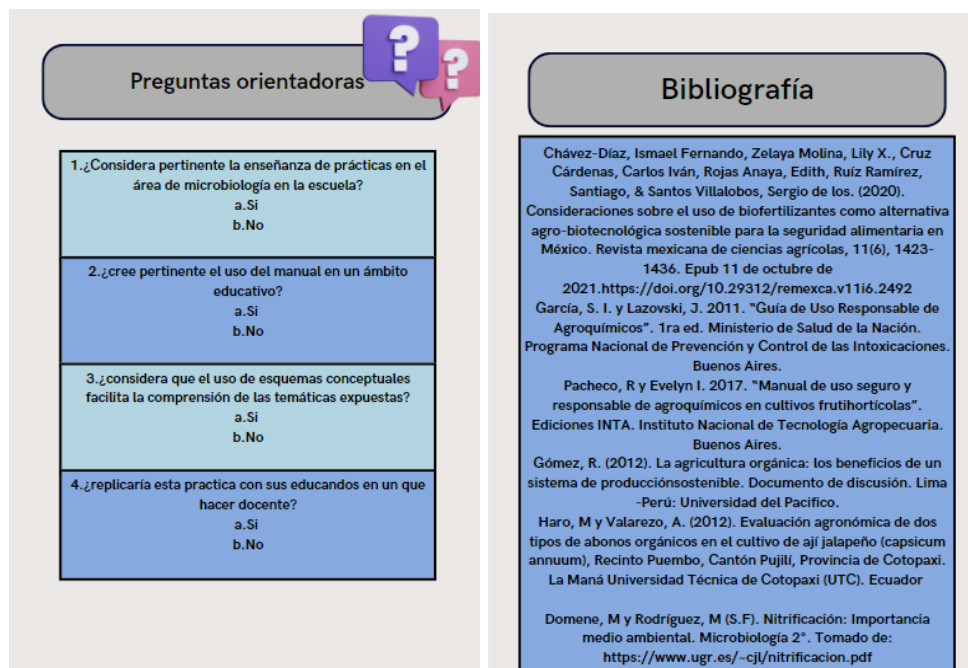


Figura 32: Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino. Preguntas de validación y bibliografía. Elaborado por Johann Caicedo (2023).

8.8.2 Validación de Manual.

La validación del manual titulado: *Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino*, se realizó con estudiantes de tercer semestre de Sistemas Microbianos del departamento de Biología de la Universidad Pedagógica Nacional. Para ello se utilizó una encuesta que constaba de ocho preguntas de respuesta única con el fin de conocer la percepción de los estudiantes acerca del manual y de esta forma visualizar la pertinencia del material educativo.

Pregunta N°1

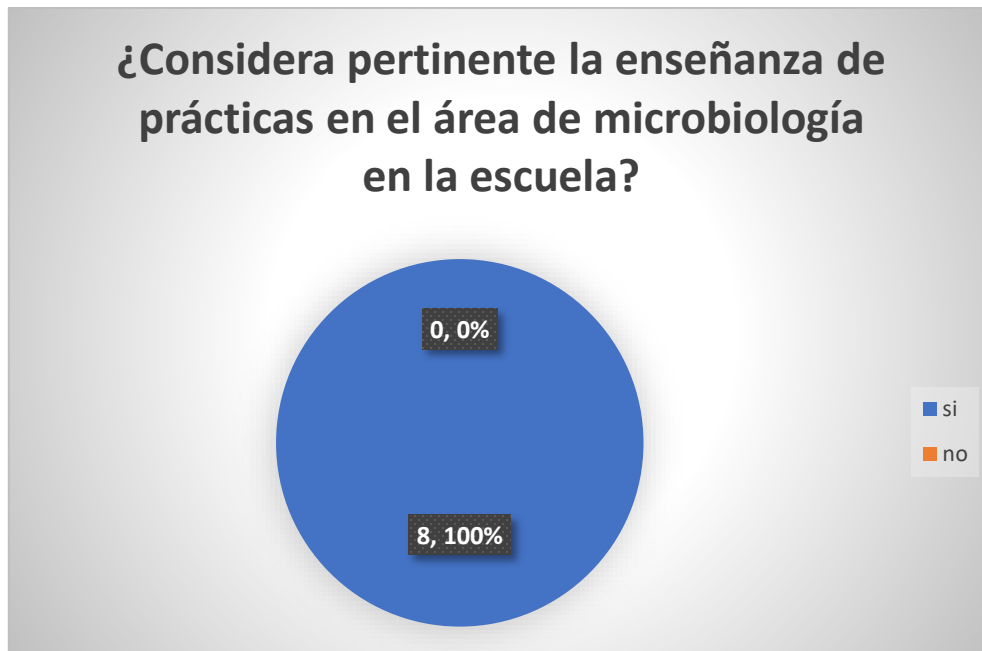


Figura 33: Validación de manual primera pregunta.

Teniendo en cuenta la gráfica 33, se puede interpretar que de los ocho participantes de la encuesta el 100% de ellos consideran pertinente la enseñanza de las practicas enfocadas en el área de la microbiología en la escuela, esto es importante porque teniendo en cuenta que la muestra escogida son maestros en formación que en un futuro podrían utilizar prácticas de laboratorio para la enseñanza de algunos conceptos en el área de la microbiología, lo que permite observar la pertinencia de la implementación y elaboración de material didáctico para esta área del conocimiento.

Pregunta N°2

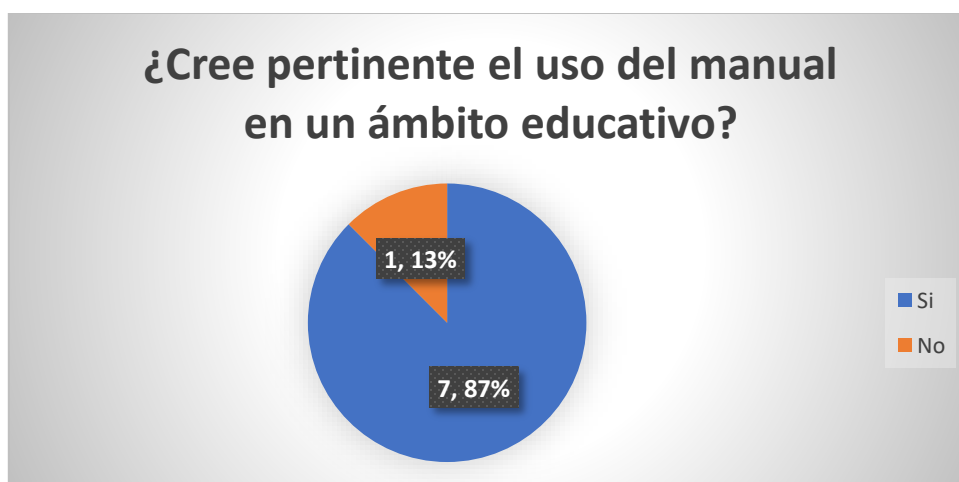


Figura 34: Validación de manual segunda pregunta.

Basándonos en la figura 34, se puede concluir que el 87% de las respuestas consideran que el uso de un manual es pertinente para un ámbito educativo, lo que determina que materiales educativos como el manual es de importancia para la enseñanza de diversos conceptos que el docente considere significativos en el área de la educación, por otro lado, el 13% considera que los manuales no son pertinentes para su uso en un ámbito escolar. Teniendo en cuenta que, de las 8 respuestas, 7 son afirmativas y 1 negativas, se puede concluir que, de acuerdo con la percepción de los participantes, el manual es una herramienta pedagógica pertinente para ser implementada en el ámbito educativo.

Pregunta N°3

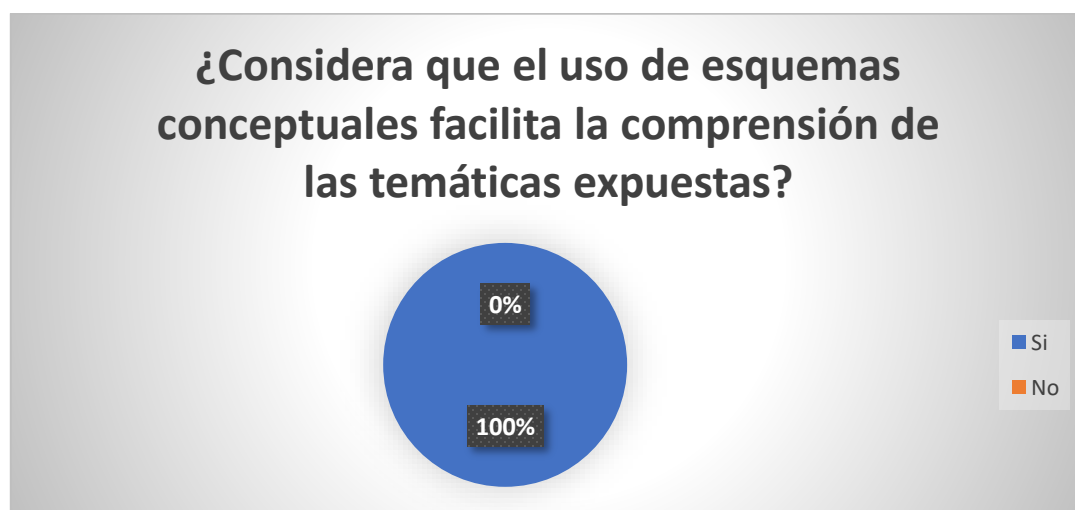


Figura 35: Validación de manual tercera pregunta.

De acuerdo con la gráfica 35, se puede concluir que, de las ocho respuestas, el 100% consideran que el uso de esquemas conceptuales facilitan la comprensión de las temáticas expuestas en el área de la microbiología y en la metodología utilizada en el manual, por lo tanto a percepción de los maestros en formación se puede entender que el uso de redes conceptuales mejoran el proceso de aprendizaje frente a distintas temáticas, así mismo es importante mencionar que al utilizar este tipo de recursos educativos los estudiantes profundizarían mejor en ciertos temas mejorando y facilitando la comprensión de distintas temáticas en diferentes áreas de la educación.

Pregunta N°4

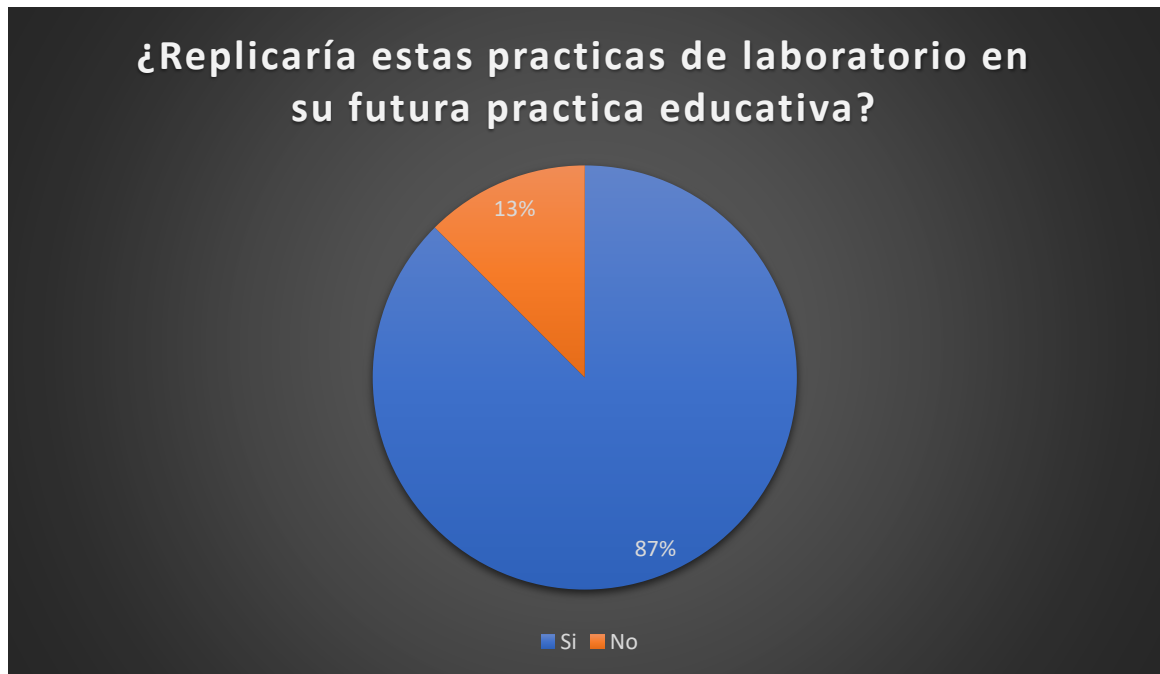


Figura 36: Validación de manual Cuarta pregunta.

Teniendo en cuenta la gráfica 36, se puede concluir a partir de las respuestas que el 87% consideran que utilizarían o replicarían las prácticas de laboratorio expuestas en el manual en su futura practica educativa, en este sentido y teniendo en cuenta que la muestra escogida son maestros en formación, es importante observar la pertinencia que tiene implementar este tipo de manuales en distintos ámbitos educativos formales y no formales, lo que incentiva el uso de prácticas de laboratorio en distintos escenarios, por otra parte, es importante mencionar que el 13% que corresponde a 1 respuesta considera que no replicaría estas prácticas en su quehacer educativo.

Pregunta N°5

¿Cree usted que el uso de poblaciones de bacterias nitrificantes contribuye a mejorar las problemáticas ambientales causadas por fertilizantes sintéticos?

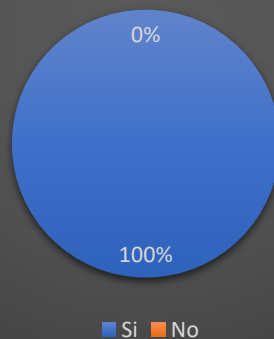


Figura 37: Validación de manual quinta pregunta.

Teniendo en cuenta la figura 37, es importante mencionar que el 100% de las respuestas consideran que el uso de poblaciones de bacterias nitrificantes contribuyen a mejorar las problemáticas ambientales causadas por fertilizantes sintéticos, de lo anterior se puede concluir que los maestros en formación que respondieron la encuesta entienden la importancia de innovar en distintas formas para disminuir el daño causado por el uso desmedido de fertilizantes no orgánicos, por lo cual el uso de poblaciones de bacterias nitrificantes según la percepción de la encuesta es eficaz para combatir las problemáticas causadas por biofertilizantes.

Pregunta N°6

6. Califique del 1 al 10, ¿Considera usted que la metodología fue la indicada para analizar la diversidad (0 de bacterias nitrificantes presentes en excremento de ganado bovino? punto)

[Más detalles](#)

8.13
Clasificación promedio

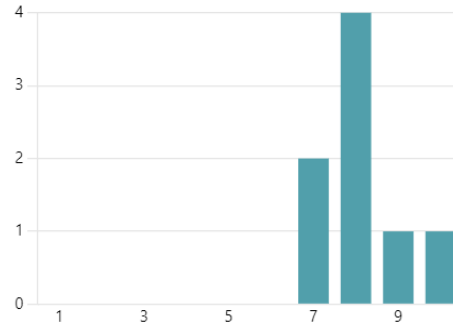


Figura 38: Validación de manual Sexta pregunta.

Basándose en la figura 38, se puede concluir que de una escala del 1 al 10 siendo 1 poco pertinente y 10 muy pertinente. La muestra considera que en promedio de 8.13, la metodología presentada fue la indicada para analizar la diversidad de bacterias nitrificantes presentes en estiércol de ganado bovino. De las ocho respuestas una considera que la metodología propuesta fue muy pertinente, otra persona considera que la propuesta tiene una pertinencia de 9 puntos, cuatro personas consideran que la metodología utilizada tiene una pertinencia de 8 puntos y finalmente dos personas consideran que la propuesta en su parte metodológica tiene una pertinencia de 7 puntos. En conclusión y teniendo en cuenta que en promedio tiene una pertinencia de 8.13 puntos la metodología utilizada fue pertinente para estudiar las poblaciones de bacterias nitrificantes en excremento de ganado bovino.

Pregunta N°7

7. Califque del 1 al 10, ¿Considera que las temáticas utilizadas para el análisis de diversidad de bacterias nitrificantes presentes en excremento de ganado bovino, son apropiadas?.

(0 punto)

[Más detalles](#)

8.38
Clasificación promedio

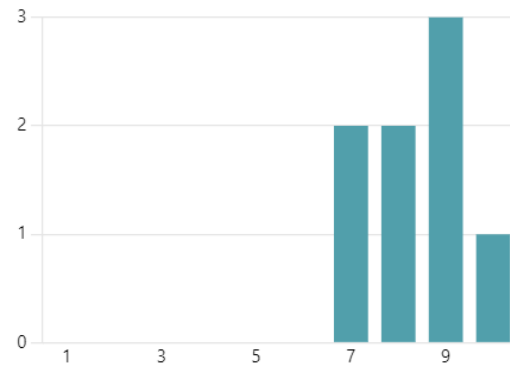


Figura 39: Validación de manual Séptima pregunta.

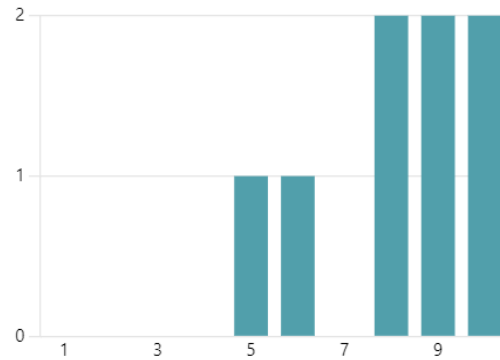
Basándose en la figura 39, se puede concluir que de una escala del 1 al 10 siendo 1 poco pertinente y 10 muy pertinente. La muestra considera que en promedio de 8.38, las temáticas para estudiar la diversidad de bacterias nitrificantes presentes en excrementos de ganado bovino fueron apropiadas. De las ocho respuestas una considera que la metodología propuesta fue muy pertinente, tres personas consideran que la propuesta tiene una pertinencia de 9 puntos, dos personas consideran que la metodología utilizada tiene una pertinencia de 8 puntos y finalmente tres personas consideran que la propuesta en su parte metodológica tiene una pertinencia de 7 puntos. En conclusión y teniendo en cuenta que en promedio tiene una pertinencia de 8.38 puntos las temáticas utilizadas fueron pertinentes para estudiar las poblaciones de bacterias nitrificantes en excremento de ganado bovino.

1 Pregunta N°8

8. Califique del 1 al 10, ¿Qué tan pertinente considera el uso del manual para explicar la importancia del uso de biofertilizantes en ámbitos rurales? (0 punto)

[Más detalles](#)

8.13
Clasificación promedio



2

Figura 40: Validación de manual Octava pregunta.

Teniendo en cuenta la figura anterior, en la escala, los estudiantes consideran que en promedio de 8.13, el manual propuesto es pertinente para explicar la importancia del uso de biofertilizantes en un ámbito rural, sin embargo, es importante recalcar que algunos profesores en formación no consideran tan pertinente el uso del manual para un ámbito rural. Se considera pertinente pensar en algunas modificaciones en futuros trabajos en donde se tenga en cuenta las condiciones en lugares no convencionales.

9. Conclusiones

La investigación que se realizó a partir de la metodología propuesta y el trabajo en campo realizado durante el transcurso de un año se analizó y se observaron las poblaciones de bacterias nitrificantes presentes en estiércol de ganado bobino de raza Holstein.

El medio de cultivo selectivo MCA tuvo una mayor eficacia en el desarrollo y crecimiento de bacterias nitrificantes en comparación con el medio SWA, tomando como referencia el conteo de UFC en cada una de las cajas de Petri donde se realizaron los aislamientos correspondientes y se observó la presencia de bacterias con forma de cocos Gram positivas en las muestras.

El aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes a partir de ganado bovino permite incentivar el uso de biofertilizantes, esto tomando como referencia que a través del análisis de los bioensayos propuestos se puede evidenciar que en cada uno de los factores estudiados (crecimiento vertical de los tallos, el peso de la raíz y número de hojas.) de las plantas de cilantro (*Coriandro sativum*) con presencia de biofertilizantes en promedio crecieron con mayor rapidez a comparación a las macetas que no se les proporcionó ningún tipo de suplemento.

El “Manual práctico de aislamiento de poblaciones de bacterias nitrificantes de excremento de ganado bovino.”, se validó con estudiantes de tercer semestre de Sistemas Microbianos de la Licenciatura en Biología de la Universidad Pedagógica Nacional, donde en términos generales se menciona la eficacia que tienen la implementación de este tipo de materiales para un ámbito educativo por el uso de esquemas conceptuales que permiten mejorar los procesos de enseñanza de algunas prácticas en el laboratorio, que al ser profesores en formación pueden llevar este tipo de materiales a diferentes lugares del país con una gran diversidad de poblaciones en su quehacer profesional.

Los microorganismos nativos están adaptados a su entorno local, lo que les confiere ventajas en términos de eficiencia y productividad en comparación con fertilizantes químicos. Su conocimiento y uso pueden conducir a procesos biotecnológicos más eficientes y sostenibles, ya que se evitan los costos y riesgos asociados con el uso de fertilizantes sintéticos.

Los microorganismos nativos, como las poblaciones de bacterias nitrificantes son una fuente inagotable de recursos biotecnológicos en el área agrícola ya que son un gran potencial en su uso como biofertilizantes.

10.Recomendaciones

Se recomienda que, para futuras investigaciones, se tenga en cuenta las condiciones en temas de materiales e infraestructura del lugar donde se vaya a aplicar el manual, esto teniendo en cuenta que el país en su área rural no cuenta con instrumentos necesarios para llevar a cabo las prácticas de laboratorio que allí se proponen, por lo tanto, es fundamental que se transformen para que cualquier tipo de población.

Es importante confirmar las especies de las bacterias obtenidas a través de la identificación molecular con el DNA ribosomal 16S.

En próximos bioensayos es importante comparar el crecimiento del cilantro con biofertilizantes y fertilizantes químicos, en donde se pueda realizar un análisis de las ventajas y desventajas.

Es importante validar el manual con diferentes tipos de poblaciones donde se analice su implementación.

11. Bibliografía

Afanador, L. (2017). Biofertilizantes: conceptos, beneficios y aplicación en Colombia. Tomado de https://www.researchgate.net/publication/331454557_Biofertilizantes_conceptos_beneficios_y_aplicacion_en_Colombia.

Bernal, J. (2019). Comparación del estiércol bufalino y bovino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.11912/8441>.

Caycedo, L. Ramírez, L. Suárez, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94. Epub 17 de janeiro de 2021. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>.

Chávez, I. Zelaya, L. Cruz, C. Rojas, E. Ruíz, S. & Santos, S. (2021). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436. Epub 11 de octubre de 2021. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2492>.

Domene, M y Rodríguez, M (S.F). Nitrificación: Importancia medio ambiental. *Microbiología 2º*. Tomado de: <https://www.ugr.es/~cjl/nitrificacion.pdf>.

Flores, J. (2018). Fertilizantes químicos y biofertilizantes en México. Palacio Legislativo de San Lázaro. Mexico. Domene C. Rodriguez M(S.f)Nitrificación Importancia medioambiental <https://www.ugr.es/~cjl/nitrificacion.pdf>.

Gallut, P. (2016). Aislamiento y cultivo de microorganismos asociados a oncoides de manantiales hidrotermales de Santispac, Bahía Concepción, B.C.S., México. La paz, California del Sur. Tomado de https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/424/1/gallut_p.pdf.

García, J. (2019). El método hermenéutico aplicado a los estudios de usuarios de la información.

https://www.researchgate.net/publication/332979549_El_metodo_hermeneutico_aplicado_a_los_estudios_de_usuarios_de_la_informacion.

García, S. y Lazovski, J. (2011). “Guía de Uso Responsable de Agroquímicos”. 1ra ed. Ministerio de Salud de la Nación. Programa Nacional de Prevención y Control de las Intoxicaciones. Buenos Aires.

Garro, J. (2017) EL SUELO Y LOS ABONOS ORGÁNICOS. Mag.go.cr. Costa Rica. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria.

Gino, A. (2018). Bacterias ¿Por qué nos enferman? Universidad Autónoma de Chile. Santiago, Chile. Tomado de <https://vdocuments.es/dr-gino-corsini-acua.html?page=5>.

Gómez, R. (2012). La agricultura orgánica: los beneficios de un sistema de producción sostenible. Documento de discusión. Lima -Perú: Universidad del Pacífico.

Gómez, V. (2010) Manual de laboratorio para la capacitación, el diseño y evaluación de sistemas fotovoltaicos. Universidad Pontificia Bolivariana. Colombia.

Haro, M y Valarezo, A. (2012). Evaluación agronómica de dos tipos de abonos orgánicos en el cultivo de ají jalapeño (*capsicum annuum*), Recinto Puenbo, Cantón Pujilí, Provincia de Cotopaxi. La Maná Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC). Ecuador.

Herrera, N. (2022). Micorrizas arbúsculares en *Lycopersicon esculentum* (Tomate Santa Clara) : el bioensayo como una estrategia para la elaboración de un material didáctico que reconozca el uso de los biofertilizantes.. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12209/18134>.

Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2018). Gov.co. Recuperado el 13 de mayo de 2023, de <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>.

Iñon N (s.f)<http://www.iib.unsam.edu.ar/archivos/docencia/licenciatura/biotecnologia/2017/QuimicaBiol/1495120476.pdf>.

Línea, V. (S.F) De fertilizantes químicos en los cultivos es un tema muy importante, E. U., & de los ciudadanos., D. Q. L. F. Q. P. en R. el M. A. y. la S. (s/f). Uso de fertilizantes químicos en los cultivos. Lineaverdesierraguadarrama.com. de <http://lineaverdesierraguadarrama.com/lv/consejos-ambientales/Uso-de-fertilizantes-quimicos-en-los-cultivos/Uso-de-fertilizantes-quimicos-en-los-cultivos.pdf>.

Magrama (2011) <https://zdocs.mx/download/bacterias-en-la-agricultura-gpd2yq2x7467?hash=95b3810a7901b08da536757313f3c793>.

Méndez, D. (2008). Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10554/8288>.

Mercedes B y Ricardo, G. (2017) QuimicaViva vol16 num2.. Uba.ar. de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v16n2/E0079.html>.

Morel, L. Eulalio, P. Ruth, E. Ever, O. Servin, A. Dasilva, O. & Huerta, A. (2021). Eficacia de biofertilizantes en la producción de variedades de fréjol. Idesia (Arica), 39(3), 13-19. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292021000300013>.

Cataño, L. Montoya, M. (2017). Preliminares para la evaluación de métodos de aislamiento y pruebas bioquímicas, para la identificación de Nitrosomonas sp., obtenidas de diferentes nichos del Campus Belmonte de la Universidad Libre, Seccional Pereira, con propósitos de biocompostaje de subproductos de la caña de azúcar. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10901/17608>.

Pacheco, R y Evelyn I. 2017. “Manual de uso seguro y responsable de agroquímicos en cultivos frutihortícolas”. Ediciones INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires.

Packer, M (S.F) La investigación hermenéutica en el estudio de la conducta humana, Universidad de California, Berkeley.

Páramo, P. & Otálvaro, G. (2006). Investigación alternativa: Por una distinción entre posturas epistemológicas y no entre métodos. Cinta de moebio. Universidad de Chile. Santiago de Chile. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/250917399_Investigacion_alternativa.

Paredes, J y Peña, C (2018) Aislamiento de bacterias nitrificantes y evaluación de su capacidad de degradación de tricloroetileno en un biorreactor de lecho natural empacado. Repositorio de la Universidad de Sonora. Hermosillo, México. Tomado de <http://hdl.handle.net/20.500.12984/6649>.

Piraquive, D. M. (2019). Análisis del guano del murciélago Carollia Perspicillata como biofertilizante de bosques perturbados.. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12209/11822>.

Quevedo, M. C. (2015). Cartilla para docentes del Instituto Pedagógico Nacional sobre simbiosis y procesos biotecnológicos: el biofertilizante Rhizobium sp como alternativa para la simbiosis con Phaseolus vulgaris. Bio-grafía, 8(14), 85.99. <https://doi.org/10.17227/20271034.vol.8num.14bio-grafia85.99>.

Ramos, D, & Terry A. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. Cultivos Tropicales, 35(4), 52-59. Recuperado en 13 de mayo de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007&lng=es&tlng=es.

Ricoy, C. (2006). Contribución sobre los paradigmas de investigación. *Educação*, 31 (1). Universidad Federal de Santa María. Santa María. Rs. Brasil. doi: <http://dx.doi.org/10.5902/19846444>.

Rodríguez, F. Martín, E. Laverde, C. Mayorga, O. Carvajal, F. Rodríguez, T. Rodríguez, J. (2011) Manual de laboratorio para el estudio de microorganismos anaerobios obligados. Bogotá.

Rodríguez, M. A. (2013). Unidad didáctica para la enseñanza de la microbiología en el aula. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12209/1811>.

Sampieri, R. Collado, C. y Lucio, P. (2003) Metodología de la Investigación. McGraw-Hill Interamericana. México, D. F.

Universidad Nacional de la Plata (s.f). Nuestras aliadas las plantas: hojas, flor y fruto. Tomado de <https://yold.unlp.edu.ar/frontend/media/97/27597/81f9ef09650f9c638a7a2dab325664e8.pdf>