

María del
Pueblito Guevara
Santana

Microbiota solubilizadora de fósforo del compostaje
estimulada con nanoestructuras de sílice como estrategia
para incrementar su liberación de fósforo disponible

2025



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Microbiota solubilizadora de fósforo del compostaje
estimulada con nanoestructuras de sílice como estrategia
para incrementar su liberación de fósforo disponible

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado
de

Maestra en Ingeniería de Biosistemas

Presenta

María del Pueblito Guevara Santana

Dirigido por

Dr. Adrián Esteban Ortega Torres

Querétaro, Qro. agosto de 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Maestría en Ingeniería en Biosistemas

**Microbiota solubilizadora de fósforo del compostaje estimulada con
nanoestructuras de sílice como estrategia para incrementar su
liberación de fósforo disponible agrícola**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ingeniería en Biosistemas

Presenta:

María del Pueblito Guevara Santana

Dirigido por:

Dr. Adrián Esteban Ortega Torres

Nombre del director de tesis

Dr. Adrián Esteban Ortega Torres

Nombre del secretario

Dr. Sergio de los Santos Villalobos

Nombre del vocal

Dr. Ramón Gerardo Guevara González

Nombre del suplente

Dr. Irineo Torres Pacheco

Nombre del suplente

Dra. Viviana Palos Barba

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Septiembre, 2025

México

AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar mi profundo agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la realización de esta tesis.

En primer lugar, expreso mi agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Adrián Esteban Ortega Torres, por su paciencia, orientación y valiosas recomendaciones, las cuales fueron fundamentales para mantener el enfoque y elevar la calidad de este trabajo.

A mis profesores, por su apoyo académico y por compartir sus conocimientos que enriquecieron este trabajo.

A mi familia, por su amor, apoyo incondicional, comprensión y paciencia, que fueron una fuente constante de motivación para superar los momentos más difíciles.

A mi hermana Jazmín, por su compañía incondicional y por creer siempre en mí, también por ayudarme y tener paciencia durante esta etapa de mi vida.

A Paulina Ontiveros, por sus consejos y palabras de aliento, también por compartir conmigo momentos alegres que me ayudaron a mantener una actitud positiva frente a las dificultades.

A Esmeralda Contreras, por acompañarme en esta etapa tan significativa de la maestría. Más allá de ser una excelente compañera, fuiste una amiga incondicional con quien compartí no sólo el esfuerzo académico, sino también risas, charlas y momentos inolvidables. Gracias por las risas, por escucharme en los momentos difíciles y por tu amistad, la cual hizo que esta etapa de mi vida fuera verdaderamente inolvidable.

A Daphne Ojeda, gracias por tu amistad sincera, por las risas que aligeraron los días difíciles y por estar siempre para escucharme. Tu compañía le dio un significado especial a esta etapa de mi vida, que siempre recordaré con mucho cariño.

A mis compañeros de la maestría, por compartir momentos inolvidables conmigo y su compañerismo, también por su apoyo mutuo y ser parte esencial de este camino. Cada uno dejó una huella en esta etapa que siempre recordaré.

A Ireri Carbajal, gracias por compartir tus conocimientos, por tu paciencia y por ayudarme a resolver cada duda en el laboratorio. Tu apoyo fue clave para que esta experiencia fuera tan enriquecedora y gratificante.

A las y los integrantes del laboratorio LBRM, por permitirme formar parte de su equipo, por cada gesto de apoyo, cada explicación paciente y cada momento compartido que hizo que este proceso fuera agradable, enriquecedor y especial. Me llevó no solo sus conocimientos, sino también experiencias. Gracias por hacerme sentir parte de algo más grande y dejar una huella en mi vida.

A Camila Durazo y su familia, por su calidez y generosidad durante mi estancia, gracias por abrirme la puerta de su casa y hacerme sentir como en casa. Nunca olvidaré los momentos que compartí con ustedes, las conversaciones sinceras y la tranquilidad de saber que podía contar con ustedes.

A Daniella y Nicole, por ser más que compañeras de laboratorio. Gracias por su ayuda en este proyecto, por incluirme en sus prácticas de campo, por las comidas compartidas y por tantas risas que hicieron de esta estancia algo inolvidable.

Al Dr. Sergio de los Santos Villalobos, por brindarme la oportunidad de realizar mi estancia bajo su guía. Gracias por compartir su conocimiento y por fomentar en mí una actitud crítica y profesional, de igual manera gracias por su apoyo y enseñanzas las cuales han sido fundamentales en mi formación y en la realización de este trabajo.

A SECIHTI y a la Universidad Autónoma de Querétaro, por brindarme las herramientas, conocimientos y oportunidades necesarias para formarme profesionalmente.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a todas las personas que, de una forma u otra, aportaron a la realización de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	2
ÍNDICE GENERAL.....	5
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ABREVIATURAS Y SIGLAS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. ANTECEDENTES	13
2. MOTIVACIÓN.....	14
3. JUSTIFICACIÓN	15
3.1 Innovación tecnológica	16
4. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	18
4.1 Compostaje	18
4.1.1 Fases del compostaje	18
4.2 Microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF)	19
4.3 Elicitores.....	19
4.3.1 Factor biótico	19
4.3.2 Factor abiótico	20
4.4 Nanopartículas	21
4.4.1 Nanopartículas como elicitores	23
4.4.2 Nanopartículas como elicitores en las bacterias benéficas para las plantas.....	23
4.5 Silicio en la naturaleza	23
4.5.1 Nanopartículas SBA-15.....	24
4.5.2 Nanopartículas de dióxido de silicio como elicitores	24
4.5.3 Nanopartículas de dióxido de silicio como elicitores de bacterias solubilizadoras de fósforo	25
4.6 Proceso de solubilización de fósforo orgánico a fósforo inorgánico por bacterias solubilizadoras de fósforo (MSF)	25
5. HIPÓTESIS.....	27
6. OBJETIVOS.....	28
6.1 Objetivo general	28
6.2 Objetivos específicos	28

7. METODOLOGÍA	29
Ubicación experimental	29
7.1 Aislamiento de las fases mesofílicas del compostaje la microbiota solubilizadora de fósforo y estimularla con las nanoestructuras de SiO ₂ para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora	29
7.1.1 Proceso de compostaje	29
7.1.2 Medios mínimos solubilizadores y mineralizadores de fósforo utilizados para el aislamiento	30
7.1.3 Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo del proceso de compostaje	31
7.1.4 Identificación MSF aislados de las fases 1 y 3 del compostaje por medio de tinción gram	32
7.1.5 Elicitación de los microorganismos solubilizadores de fósforo aislados del compostaje con las nanoestructuras de SiO ₂ para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora	33
7.2 Evaluación del efecto de nanoestructuras de SiO ₂ tradicional y corta en los por consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo, mediante pruebas en actividad específica enzimática y solubilizadora	34
7.2.1 Pruebas de biocompatibilidad	34
7.2.2 Pruebas de los consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo elicitados con SBA15 tradicional y corta en mineralización y solubilización	34
7.2.4 Identificación de los MSF seleccionados del consorcio por 16 S	35
7.3 Aplicación en composta madura del mejor consorcio MSF con la concentración de actividad específica enzimática y de solubilización obtenida en los resultados anteriores para incrementar el fósforo disponible en la composta madura	36
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
8.1 Evaluación de la actividad enzimática y solubilizadora de microbiota solubilizadora de fosforo aislada de las fases mesofílicas y estimulada con nanoestructuras de SiO ₂	38
8.1.1 Proceso de compostaje	38
8.1.2 Aislamiento e identificación por tinción de Gram de los microorganismos solubilizadores de fósforo de las fases mesofílicas del compostaje	38
8.1.3 Elicitación de los microorganismos solubilizadores de fósforo aislados del compostaje con las nanoestructuras de SiO ₂ para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora	42
8.2 Evaluación del efecto de nanoestructuras de SiO ₂ en la producción de enzimas y ácidos orgánicos exudados por consorcios de microorganismos, mediante pruebas con sobrenadantes, para determinar el tratamiento más efectivo	46
8.2.1 Pruebas de biocompatibilidad	46
8.2.2 Pruebas de los exudados por los consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo elicitados con nanoestructuras en mineralización y solubilización	47

8.2.3 Identificación del consorcio	49
8.3 Resultados de aplicar en composta madura la mayor concentración de actividad específica enzimática y de solubilización obtenida en los resultados anteriores para incrementar el fósforo disponible para la agricultura	51
9. CONCLUSIÓN	53
10. BIBLIOGRAFÍA	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las nanopartículas por su naturaleza y estructura.	21
Tabla 2. Combinaciones para consorcios de los microorganismos.	35
Tabla 3. Descripción de tratamientos del consorcio MSF (ABCD) aplicados a la composta madura.....	36
Tabla 4. Microorganismos solubilizadores de fósforo aislados de las fases mesofílicas del proceso de compostaje en tinción de gram.	39
Tabla 5. Valores de calidad de ADN	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento de preparación de medios mínimos de fósforo.	30
Figura 2. Proceso de aislamiento de los microorganismos solubilizadores de fósforo de las fases mesofílicas del proceso de compostaje.	32
Figura 3. Microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF) aislados del compostaje con la capacidad metabólica de solubilizar y mineralizar en cada pH y elicitados con nanoestructuras de SiO ₂ SBA15 tradicional (S) y modificada (C). a) Unidades Formadoras de Colonias (UFC). b) halos de solubilización de fósforo en PVK (cm). c) actividad específica enzimática fosfatasa ácida (A) (U/mg de proteína). d) U/mg de proteína de fosfatasa neutra (N). e) U/mg de proteína de fosfatasa básica (B). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$	44
Figura 4.. Pruebas de biocompatibilidad de los microorganismos solubilizadores de fósforo de la construcción del consorcio ABCD.	46
Figura 5. Construcción de consorcio solubilizador de fósforo nativo del compostaje elicitados con nanoestructuras de SiO ₂ SBA-15 tradicional (S) y modificada (C) en una concentración de 100 ppm. a) halo de solubilización. b) actividad específica enzimática fosfatasa ácida (A). c) actividad específica enzimática fosfatasa neutra (N). d) actividad específica enzimática fosfatasa básica (B). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$	48
Figura 6. Conversión del P Total a P Olsen en composta madura de las pruebas de solubilización de fósforo, con agua desionizada como control (C), consorcio de los cuatro microorganismos elicitados con nanoestructura de SiO ₂ tradicional con 100 ppm (ME), exudado del consorcio elicitado con nanoestructuras de SiO ₂ tradicional con 100 ppm (SE), consorcio elictado con nanoestructuras más sobrenadante (ME+SE), consorcio sin nanoestructuras (M), sobrenadante del consorcio sin nanoestructuras (S) y consorcio más sobrenadante sin nanoestructuras (M+S). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$	51

ABREVIATURAS Y SIGLAS

- Fosforo (P)
- Nanopartículas (NPs)
- Santa Barbara Amorphous (SBA15)
- Pikovskaya (PVK)
- Nitrógeno (N)
- Carbono (C)
- Dióxido de carbono (CO₂)
- Microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM)
- Medio p-nitrofenil fosfato (NBRIP)
- Microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF)

RESUMEN

El fósforo constituye un macronutriente fundamental para el desarrollo y crecimiento de las plantas, y el uso intensivo de fertilizantes fosfatados en la agricultura, ha contribuido a la degradación del suelo y al agotamiento de la roca fosfórica, una materia prima no renovable con reservas limitadas a 5 países en el mundo. Frente a esta situación, se analizó el potencial de microorganismos solubilizadores de fósforo, obtenidos a partir de composta de estiércol bovino, como una opción sostenible para mejorar la disponibilidad de fósforo en suelos destinados a la agricultura. Lo cual tuvo como objetivo elicitación de estos microorganismos aislados de composta con nanoestructuras de SBA15 para así aumentar el fósforo disponible en composta madura. La metodología incluyó el aislamiento de microorganismos de las fases mesofílicas del proceso de compostaje, seguido por pruebas de solubilización en medio Pikovskaya y mineralización en medio NBRIP. Posteriormente se seleccionaron los microorganismos más eficientes y se formaron consorcios, a los cuales se les extrajo sus metabolitos y se aplicaron en composta madura y después fueron analizados por el INIFAP. Los resultados mostraron que diez de los veinte microorganismos aislados tenían la capacidad de liberar ácidos orgánicos y enzimas fosfatasas, y que, entre ellos, cuatro destacaron por su alta eficiencia en presencia de una concentración de 100 ppm de ambas nanoestructuras de SiO₂. Posteriormente el consorcio formado por estas cuatro cepas fue identificado por medio de secuenciación 16 S rRNA ribosomal, estos microorganismos fueron identificados como *Proteus mirabilis* y *vulgaris*. De igual manera este consorcio fue el más eficaz, mostrando un sinergismo con las nanoestructuras lo cual dio como resultado una mayor liberación de fósforo hasta un 21.75%. Con esto se concluye que el uso de nanoestructuras SBA15 como elicitores en consorcios microbianos aislados de composta puede mejorar significativamente la disponibilidad de fósforo.

Palabras clave: ciclo del fósforo, recursos no renovables, microorganismos, plantas, macronutrientes.

ABSTRACT

Phosphorus is a fundamental macronutrient for plant growth and development, and the intensive use of phosphate fertilizers in agriculture has contributed to soil degradation and the depletion of phosphate rock—a non-renewable raw material with reserves limited to only five countries worldwide. In response to this situation, the potential of phosphorus-solubilizing microorganisms, obtained from bovine manure compost, was analyzed as a sustainable alternative to improve phosphorus availability in agricultural soils. The objective was to elicit these compost-isolated microorganisms using SBA15 nanostructures to increase the available phosphorus in mature compost. The methodology involved isolating microorganisms from the mesophilic phases of the composting process, followed by solubilization tests in Pikovskaya medium and mineralization tests in NBRIP medium. The most efficient microorganisms were then selected and used to form microbial consortia. Metabolites were extracted from these consortia and applied to mature compost, which was subsequently analyzed by INIFAP. The results showed that ten out of the twenty isolated microorganisms had the ability to release organic acids and phosphatase enzymes, and among them, four stood out for their high efficiency in the presence of a 100-ppm concentration of both SiO_2 nanostructures. The consortium formed by these four strains was later identified through 16S rRNA ribosomal sequencing, and the microorganisms were identified as *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris*. This consortium also proved to be the most effective, exhibiting a synergistic interaction with the nanostructures, resulting in a phosphorus release increase of up to 21.75%. In conclusion, the use of SBA15 nanostructures as elicitors in microbial consortia isolated from compost can significantly enhance phosphorus availability.

Keywords: phosphorus cycle, non-renewable resources, microorganisms, plants, macronutrients.

1. ANTECEDENTES

El fósforo (P) es un nutriente clave para el desarrollo y crecimiento de las plantas, debido a su participación en diversos procesos bioquímicos y fisiológicos fundamentales. La aplicación de fertilizantes fosfatados es una parte integral de las prácticas agrícolas convencionales en todo el mundo, siendo el segundo elemento más utilizado por la agricultura (Tun-Che, 2018; Giannini et al., 2022). Los fertilizantes fosfatados comerciales se producen principalmente a partir de la extracción de roca de fosfato, de la cual, gran parte no está físicamente accesible ya que contiene altos niveles de contaminantes o está restringida por otros factores (Giannini et al., 2022).

Actualmente existen microorganismos que han demostrado solubilizar P, lo que ha captado el interés de numerosos investigadores. Velasco en 2021, en compost de restos de plantas inóculo tres géneros de bacterias *Bacillus* 1374, *Bacillus* 2310 y *Penicillium* 4217, de las cuales dieron resultados favorables en cuanto al incremento de P total. De igual manera Ortega-Torres en 2021, adicionó enzimas aisladas de microorganismos naturalmente solubilizadores de P en composta madura de estiércol de vaca, de la cual se obtuvo hasta un 12 % de P total.

Se ha reportado que el uso de nanopartículas de óxido de silicio (NP de SiO₂) ha aumentado el tamaño de tallo, germinación, aumento de hojas (Suriyaprabha et al. 2012), y tolerancia a la sal (Haghighi et al. 2012). Ferrusquia-Jiménez en 2022, elicitaron la bacteria *Bacillus cereus* -Amazcala con NP de SiO₂ (100 ppm) en plantas de chile y los resultados que obtuvieron fue aumento en el índice de germinación de semillas, en la altura de la planta y en el rendimiento de frutos. De igual manera aumentó la población bacteriana que se encontraba en las raíces de la planta. En 2023 Vargas-Martínez evidenció que hay sinergismo entre las nanopartículas de óxido de zinc y consorcios bacterianos del suelo, lo cual dio como resultado aumento del grosor del tallo, aumento de la altura y longitud de raíz de las plantas.

2. MOTIVACIÓN

Actualmente, el proceso que ha reportado mayor capacidad de solubilización del fósforo, hasta 12%, es mediante un coctel enzimático en un medio de composta madura con la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATC 15442, de la cual se obtuvo *in vitro* un cóctel de las enzimas fosfatasa ácida, alcalina y neutra (Ortega-Torres et al., 2021).

El desarrollo de nuevas tecnologías mediante el uso de nanoestructuras de sílice puede ayudar a mejorar la solubilidad del fósforo de manera significativa. Se ha reportado que este material puede actuar como elicitador en la población bacteriana (Ferrusquia-Jiménez et al., 2022), para incrementar su cantidad y en consecuencia aumentar la cantidad de fósforo disponible, gracias a su alta relación superficie- volumen.

3. JUSTIFICACIÓN

El fósforo es uno de los nutrientes más importantes para el desarrollo de los cultivos, después del nitrógeno, ya que interviene en procesos esenciales como la fotosíntesis, la respiración y la transferencia de energía en las plantas (Fernández, 2007). Sin embargo, su disponibilidad en el suelo suele ser limitada debido a su baja solubilidad y a la rápida inmovilización en formas no asimilables. Para suplir esta carencia, se recurre al uso de fertilizantes fosfatados, cuya producción implica altos costos económicos y energéticos. Esta situación se ha visto agravada en años recientes por factores como la disrupción de la cadena de suministros durante la pandemia de COVID-19, el aumento en los costos de energía y transporte a raíz de la guerra en Ucrania, y fenómenos climáticos adversos que han afectado la producción agrícola global (Barragán, 2023; Urcola, 2022).

Ante este contexto, se vuelve indispensable buscar estrategias sostenibles que incrementen la disponibilidad de fósforo en el suelo sin depender exclusivamente de fertilizantes químicos. Una alternativa prometedora es el uso de microorganismos solubilizadores de fósforo (PSB), los cuales, mediante procesos biogeoquímicos, transforman compuestos insolubles en formas accesibles para las plantas (Hakim et al., 2021). No obstante, la actividad de estos microorganismos no siempre es suficiente para satisfacer la alta demanda agrícola, por lo que se han explorado métodos para potenciar su acción.

En este sentido, el uso de nanopartículas de óxido de sílice ha demostrado ser una herramienta efectiva para estimular el crecimiento microbiano. Se ha observado que la nanosílice puede adherirse a las membranas celulares, alterando su estructura y favoreciendo, en ciertos casos, el aumento de la población bacteriana (Phenrat et al., 2009; Shukla et al., 2015). Ensayos con diferentes concentraciones han evidenciado que dosis como 0.07 ppm pueden generar incrementos significativos en la cantidad de microorganismos beneficiosos (Rangaraj et al., 2014), posiblemente al actuar como sustrato metabólico o como agente bioestimulante. A concentraciones mayores (100 ppm), incluso se ha registrado un aumento de poblaciones funcionales como fijadores de nitrógeno y PSB (Gordienko, 2007).

Diversos estudios han señalado que la capacidad de hidratación de la sílice podría favorecer su interacción con las superficies bacterianas (Kumar et al., 2015). En este sentido, los resultados obtenidos para el volumen de poro en las muestras de Nanopartículas de sílice mesoporosa recubiertas de quitosano (MSN) y Nanoarcilla (NC) mostraron una correlación directa con el área superficial, en concordancia con lo reportado por Sigmund et al. (2017), quienes identificaron una relación positiva entre estos dos parámetros. Asimismo, se observó que los biocarbones obtenidos mediante procesos de gasificación tienden a presentar mayores áreas superficiales. Tomczyk et al. (2020) también informaron que temperaturas de producción más elevadas generan biocarbones con mayor área superficial, posiblemente debido a cambios en la organización estructural interna del material. Adicionalmente, se detectaron aumentos en las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo, lo cual sugiere un posible efecto positivo sobre la microbiota del suelo.

Por lo que el objetivo de esta investigación es elicitarse con nanopartículas de óxido de sílice microorganismos solubilizadores de fósforo de la fase mesofílica I y II de la composta de estiércol vacuno para aumentar su biodisponibilidad para las plantas.

3.1 Innovación tecnológica

A continuación, se describen algunas patentes que se han realizado en cuanto a la solubilización de fósforo con microorganismos:

En la patente ES2453099T3, se utilizó la bacteria *Bacillus thuringiensis* para determinar su capacidad como bionematicida y su capacidad para favorecer el desarrollo de las plantas. Se comprobó que esta cepa posee la habilidad para solubilizar fosfatos y otros minerales presentes en el suelo. Las pruebas se realizaron en medio sólido, utilizando PVK con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ como fuente de fósforo (Fernández et al., 2013).

Igual que arriba, en la patente WO2008131699A2, por medio de *Tsukamurella paurometabola* cepa C-924, con el objetivo de estimular el crecimiento y desarrollo fenológico de las plantas, demostraron que este microorganismo tiene la capacidad de hacer asimilable el nitrógeno y el fósforo, ya que interviene en la solubilización del fósforo (Mena et al., 2008).

Según la patente WO2017/103299 A1, se utilizó un fertilizante que contiene iones metálicos como cobre, manganeso y hierro, los cuales están complejados con aminoácidos, con el fin de favorecer la solubilización del fósforo por parte de los microorganismos del suelo (Atares et al., 2017).

Actualmente no hay patentes sobre elicitación de microorganismos con nanopartículas para la obtención de la mayor cantidad de fósforo total en composta de estiércol de vaca. Adicionalmente no hay empresas que comercialicen un producto de nanopartículas para elicitación de microorganismos en el suelo.

4. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

4.1 Compostaje

El compostaje es un proceso biológico natural de descomposición en el cual participan diversos microorganismos que, en condiciones aerobias, realizan complejas reacciones metabólicas empleando el nitrógeno (N) y el carbono (C) disponibles para formar su biomasa. Durante este proceso también se genera calor y un residuo sólido. Los microorganismos implicados pertenecen a familias como *Pseudomonaceae*, *Erythrobacteraceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae* y *Streptomyetaceae* (Sánchez et al., 2017). Como resultado, se lleva a cabo una biodegradación que transforma la materia orgánica en dióxido de carbono (CO₂), agua y minerales, dando lugar al compost. Al final del proceso, el material compostado adquiere un color marrón oscuro, una textura suave y un olor similar al de la tierra (Valencia, 2021).

4.1.1 Fases del compostaje

Fase Mesofílica I: La fase inicial del compostaje es impulsada por bacterias mesofílicas que funcionan a temperatura ambiente. Conforme el proceso avanza, la temperatura aumenta rápidamente hasta cerca de 45 °C debido a la elevada actividad microbiana, marcando el comienzo de la biodegradación. Esta etapa tiene una duración que oscila entre dos y ocho días (Román et al., 2013).

Fase Termofílica: En esta fase, la temperatura se incrementa aún más, llegando a mantenerse entre los 70 y 80 °C como resultado del calor generado por los microorganismos. Aquí, intervienen bacterias termofílicas, responsables de descomponer compuestos más complejos como la celulosa y la lignina. Esta etapa puede extenderse desde unos pocos días hasta varios meses (Roman et al., 2013).

Fase Mesofílica II: En esta etapa, la temperatura vuelve a disminuir hasta aproximadamente 45 °C, lo que provoca una desaceleración en la actividad microbiana y una disminución en las emisiones. En este periodo no es necesario realizar aireación ni humedecimiento. Esta fase puede prolongarse por varias semanas (Roman et al., 2013).

Fase de Maduración: Esta es la fase final del compostaje, que puede extenderse por varios meses a temperatura ambiente. En este tiempo, ocurren reacciones secundarias de condensación y polimerización de compuestos carbonados, que dan lugar a la formación de ácidos húmicos y fúlvicos (Roman et al., 2013).

4.2 Microorganismos solubilizadores de fosfatos (MSF)

Los microorganismos solubilizadores de fósforo (P) forman parte del grupo de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) y se caracterizan por mejorar la disponibilidad del fosfato para las plantas (Palma, 2022). Estos organismos transforman formas insolubles de fósforo en compuestos solubles mediante mecanismos como la acidificación, la quelación y reacciones de intercambio iónico (Mora-Quilismal et al., 2021). Diversos géneros bacterianos poseen esta capacidad, incluyendo *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Gordonia*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Thiobacillus*, *Mycobacterium*, *Micrococcus* y *Agrobacterium*, entre otros (Beltrán Pineda, 2014). En cuanto a los hongos, se ha demostrado que géneros como *Penicillium* (por ejemplo, *P. implicatum* y *P. citreo-viridae*), *Paecilomyces*, *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*), *Scopulariopsis*, *Moniliella* y *Mortierella* también tienen la capacidad de solubilizar fósforo (Bobadilla, 2008). Estos microorganismos pueden desarrollarse en medios que contienen compuestos insolubles como fosfato tricálcico o apatita como única fuente de fósforo, y no solo utilizan el fósforo para su propio crecimiento, sino que también lo liberan al medio en cantidades significativamente mayores (Scattareggia et al., 2016).

4.3 Elicitores

Los elicitores son señales extracelulares o intracelulares que son detectadas por receptores ubicados en la membrana plasmática o en las endomembranas (Paladines, 2021). Estas señales desencadenan respuestas similares a las provocadas por estímulos externos, ya sean de origen biótico o abiótico, y activan la producción de compuestos pertenecientes al metabolismo secundario, como los compuestos fenólicos, los cuales tienen gran relevancia tanto tecnológica como nutricional (Giménez-Bañón et al., 2023).

4.3.1 Factor biótico

Hace referencia a los elementos que participan en las relaciones entre los microorganismos (Echeverría, 2017). Además de sus interacciones con el entorno

abiótico, las especies también compiten entre ellas por recursos como alimento, refugio u otros beneficios. Estas relaciones se consideran factores bióticos, los cuales pueden tener efectos positivos, negativos o neutros, dependiendo del tipo de interacción (Educación ambiental, 2011).

- Extracto de levadura
- Fitohormonas (ácido jasmónico, ácido salicílico, etileno, entre otros).
- Poli y oligosacáridos
- Extractos celulares
- Ácidos nucleicos
- Células complejas

4.3.2 Factor abiótico

Los factores abióticos son factores físico-químicos del ambiente (Gonzalez, 2018), es decir, no poseen vida propia o son inertes (Sánchez, 2023). Estos factores se encuentran en el espacio físico o biotopo, donde se desarrollan, alimentan, de relación y se reproducen los seres vivos. Algunas de las características que presentan son no poseer vida, pueden ser naturales o artificiales, influyen en el crecimiento y expansión, son modificados por los seres vivos, son responsables de diversas adaptaciones en los microorganismos (Márquez, 2022).

Físicos

- Radiación electromagnética
- Tigmomorfogénesis
- Ondas acústicas
- Campos magnéticos
- Estrés hídrico
- Temperatura

Químicos

- Elementos benéficos (Al, Co, Na, Se, Si, metales pesados).
- Sales minerales (NaCl, sulfatos, fosfatos)
- Gases (metanol, óxido nítrico, ozono, CO₂)

- Nanoestructuras (Si, Ag, nanotubos de carbono)
- Análogos del ácido salicílico

4.4 Nanopartículas

Las nanopartículas (NPs) son estructuras cuyas dimensiones son menores a 100 nanómetros (equivalente a 1×10^{-9} metros), y al menos dos de sus ejes miden entre 1 y 100 nanómetros. Estas partículas pueden fabricarse a partir de distintos materiales, incluidos los metales. Existen dos enfoques principales para su síntesis: los métodos *Top-down* y *Bottom-up* (Gómez, 2018). Características como el tamaño de partícula, la distribución del tamaño y la carga superficial influyen significativamente en la estabilidad física y en cómo se distribuyen las NPs dentro de un organismo (*in vivo*) (Márquez et al., 2021). Entre las propiedades destacadas de las nanopartículas se encuentran su reducido tamaño, una elevada relación área superficial/volumen, gran capacidad de adsorción, abundancia de sitios reactivos, alta actividad catalítica y notable estabilidad química (Gabriel, 2023).

En la siguiente tabla se muestra la clasificación de las nanopartículas por su naturaleza química y estructura (Gómez, 2018).

Tabla 1. Clasificación de las nanopartículas por su naturaleza y estructura.

Dimensión	Orgánicos	Inorgánicos
	Nanomaterial	Nanomaterial
Cero dimensional (0D)	Fullerenos	Quantum dots (puntos cuánticos). Nanocristales
	Coloides orgánicos	
	Grafeno	Nanoagrupación (nanocluster)
	Lípidos	
	Nanopartículas: lípidos, proteínas, ADN	Coloides silíceos, aluminosos

Dimensión	Orgánicos	Inorgánicos
	Nanomaterial	Nanomaterial
	Nanopartículas poliméricas	Nanosílice
		Nanopartículas de óxidos metálicos: Al ₂ O ₃ , Cu ₂ O, TiO ₂ , SiO ₂ , ZrO ₂ , Fe ₂ O ₃ , Fe ₂ O ₄ , ZnO...
Uni dimensional (1D)	Nanotubos de carbono	Nanotubos inorgánicos
	Nanofibras poliméricas	Nanofibras
		Nanoarcillas: metacaolín
	Nanocristales de celulosa (CNC5) y celulosa nanofibrilar (NFC)	Nanocables (Nano wires)
		Nanovarillas (Nanorods)
Bi-dimensional (1D)		Monocapas
		Nanorrecubrimiento
		Películas poliméricas (nano)
		Superficie espesor <100 nm
Tri- dimensional (1D)		Películas multicapa
		Policristales
		Nanobolas
		Nanobobinas
		Nanoflores

4.4.1 Nanopartículas como elicitores

Las nanopartículas han mostrado ser efectivas para mejorar la tolerancia de los cultivos frente a distintos tipos de estrés, ya sea biótico o abiótico, como la exposición a metales pesados o la sequía (Giménez-Bañón et al., 2023). Además, se ha reportado el uso de NPs de cobre, zinc e hierro en plantas de tomate, obteniendo efectos positivos como el incremento en el grosor del tallo y una floración más favorable (Moreno, 2017). También se ha observado que las nanopartículas estimulan la producción de antioxidantes naturales en los cultivos, lo cual puede representar beneficios para la salud humana. Estas partículas presentan propiedades diferentes a las de los materiales en estado macroscópico, principalmente debido a su reducido tamaño y alta relación superficie-volumen, lo que aumenta tanto su solubilidad como su reactividad superficial (Ahire et al., 2022; Budhani et al., 2019).

4.4.2 Nanopartículas como elicitores en las bacterias benéficas para las plantas

Las nanopartículas se han empleado para favorecer y acelerar el proceso de colonización bacteriana, además de activar bacterias que normalmente no son cultivables dentro de las plantas, así como inducir la producción de peróxido de hidrógeno en las raíces (Macedo, 2018). Por otro lado, se ha observado que el uso de nanopartículas de hidroxiapatita, a pesar de generar una menor biomasa bacteriana, puede resultar beneficioso al estimular la producción de metabolitos involucrados en la solubilización del fósforo (Monroy Miguel, 2019).

4.5 Silicio en la naturaleza

El silicio (Si) es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, después del oxígeno, y está presente de manera natural en las plantas, con concentraciones que oscilan entre el 0.1 y el 10.0%. Entre sus funciones en las plantas destacan el fortalecimiento de las paredes celulares y la reducción de la acumulación de metales (Tejeda Villagómez et al., 2022). El silicio se presenta en forma de compuestos solubles, como el ácido monosilícico y el ácido polisilícico, que influyen en diversas propiedades químicas y físico-químicas del suelo. Cuando el silicio alcanza su máxima solubilidad, se polimeriza y se deposita en las paredes celulares de las superficies epidérmicas de tallos, hojas y frutos (Cabezas Gutiérrez et al., 2022).

4.5.1 Nanopartículas SBA-15

Los materiales porosos se clasifican según el tamaño de sus poros en tres categorías: macroporosos (mayores a 50 nm), mesoporosos (entre 2 y 50 nm) y microporosos (menores a 2 nm) (Nalwa, 2004). Dentro de los mesoporosos, se distinguen dos grandes grupos: los basados en sílice y los no silíceos. Entre los materiales silíceos más destacados se encuentran las familias MCM (Mobil Composition of Matter) y SBA (Santa Barbara Amorphous).

Los materiales MCM fueron de los primeros en ser desarrollados, siendo el MCM-41 uno de los más representativos. Este se sintetiza mediante el uso de alquiltrimetilamonio como agente surfactante. Según la concentración de dicho surfactante y las condiciones de síntesis, se pueden obtener otras variantes estructurales como el MCM-48, con una estructura cúbica tridimensional, y el MCM-50, que presenta una estructura laminar (Kumar et al., 2017). Posteriormente, Zhao et al. (1998) desarrollaron los materiales SBA, los cuales se caracterizan por su elevada estabilidad térmica y mecánica, así como por sus estructuras de poros altamente ordenadas. En particular, las nanopartículas SBA-15 (Santa Barbara Amorphous 15) presentan una estructura mesoporosa de sílice ordenada, compuesta por canales cilíndricos paralelos dispuestos en un arreglo hexagonal bidimensional, y paredes relativamente gruesas. Esta configuración les otorga una excelente estabilidad hidrotérmica y mecánica, superior a la de otros materiales mesoporosos.

Gracias a estas propiedades, las nanopartículas SBA-15 han demostrado ser altamente versátiles en múltiples aplicaciones, tales como catálisis, adsorción de compuestos, detección química, inmovilización enzimática y el desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos (Dos Santos et al., 2013; Magaña-López et al., 2022; Zhao et al., 2005).

4.5.2 Nanopartículas de dióxido de silicio como elicitores

Las NPs de SiO_2 han demostrado efectos beneficiosos en plantas debido a sus propiedades como la composición química del material, el tamaño y la morfología, la reactividad y la dosis (Magaña-López et al., 2022). También se ha descubierto que pueden actuar como protector, al proporcionar un sistema de defensa física y/o

bioquímica ante la presencia de patógenos (Currie & Perry, 2007; Siddiqui & Al-Wahaibi, 2014), también interviene en el crecimiento y desarrollo de las plantas en condiciones de estrés (Matichenkov & Kosobrukhov, 2004).

4.5.3 Nanopartículas de dióxido de silicio como elicitores de bacterias solubilizadoras de fósforo

Las NPs actúan como eustresor en las bacterias, esto debido a sus propiedades únicas que incluyen tamaño de poro ajustable, área superficial alta, facilidad de funcionalización de la superficie, estabilidad física y química y alta biocompatibilidad y degradabilidad en condiciones fisiológicas (Hincapié-Rojas et al., 2020); esto provoca que se active su mecanismo de defensa (Ferrusquía-Jiménez et al., 2022), y como consecuencia aumenten su población microbiana y solubilizan P (Rangaraj et al., 2014). De igual manera se ha reportado que las NPs-SiO₂ han mejorado la biomasa microbiana del suelo y el contenido de nutrientes (Rajput et al., 2021).

4.6 Proceso de solubilización de fósforo orgánico a fósforo inorgánico por bacterias solubilizadoras de fósforo (MSF)

El proceso de solubilización del P orgánico a inorgánico es realizada por microorganismos solubilizadores de P, que juegan un papel crucial en la nutrición de las plantas y en la dinámica del P en suelos agrícolas, al facilitar su disponibilidad en formas que las plantas pueden absorber. Estos microorganismos pueden actuar a través de dos vías principales: la solubilización y la mineralización del P procesos que involucran mecanismos bioquímicos distintos pero complementarios (Monroy Miguel, 2019; Ruiz-Chutan et al., 2021).

Mineralización: Durante el proceso de mineralización del P, participan principalmente dos tipos de enzimas: fosfatasas (ácidas, neutras y básicas) y fitasas. Las fosfatasas ácidas no específicas desempeñan un papel crucial al romper enlaces fosfodiéster o fosfoanhídrido presentes en la materia orgánica, facilitando así la liberación del P (Monroy Miguel, 2019). Por su parte, las fitasas tienen una función más específica, ya que actúan sobre el ácido fítico, la forma más abundante de P orgánico, liberando fosfato utilizable por las plantas (Menezes-Blackburn et al., 2013; Monroy Miguel, 2019).

Los principales mecanismos mediante los cuales los microorganismos solubilizan el fosfato mineral incluyen: la producción de ácidos orgánicos, que resulta de la respiración oxidativa o de procesos fermentativos microbianos; la generación de protones, relacionada con la asimilación de NH_4 y actividades respiratorias; y la síntesis de ácidos inorgánicos y dióxido de carbono (Billah et al., 2019; Monroy Miguel, 2019; Ruiz-Chutan et al., 2021).

Los ácidos orgánicos implicados en la solubilización del fósforo actúan en tres etapas principales:

1. La liberación de protones durante la disociación de estos ácidos reduce el pH del suelo, lo que favorece la disolución de minerales fosfatados.
2. Las reacciones de quelación ocurren cuando los aniones de los ácidos orgánicos intercambian grupos ortofosfato con fosfatos de calcio (Ca^{2+}), hierro (Fe^{3+}) y aluminio (Al^{3+}), liberando estos minerales en la solución del suelo.
3. El intercambio de fosfatos que están adsorbidos de forma no específica en las partículas sólidas del suelo por aniones derivados de los ácidos orgánicos.

5. HIPÓTESIS

La biodisponibilidad del fósforo en composta de estiércol vacuno aumenta significativamente con la incorporación de nanopartículas de sílice; lo anterior debido a la elicitación de las nanopartículas sobre la comunidad bacteriana, que promueve su crecimiento poblacional generando un incremento en la liberación de ácidos orgánicos y enzimas.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Aumentar la biodisponibilidad del fósforo en composta de estiércol vacuno mediante la elicitación de su comunidad bacteriana con nanopartículas de sílice, promoviendo su incremento poblacional y solubilización de fósforo.

6.2 Objetivos específicos

Aislar de las fases mesofílicas del compostaje la microbiota solubilizadora de fósforo y estimularla con las nanoestructuras de dióxido de silicio para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora.

Evaluar el efecto de nanoestructuras de óxido de sílice en la construcción de un consorcio de microorganismos solubilizadores de fósforo sobre su actividad específica enzimática y solubilizadora.

Aplicar en composta madura la mayor concentración de actividad específica enzimática y de solubilización obtenida de la elicitación con nanoestructuras de óxido de silicio del consorcio solubilizador de fósforo para incrementar el fósforo disponible para la agricultura.

7. METODOLOGÍA

Ubicación experimental

El experimento se llevó a cabo en dos ubicaciones diferentes. La síntesis y caracterización de las nanopartículas de sílice se realizó en el laboratorio de nanotecnología del Campus Aeropuerto. Mientras tanto, la segunda etapa, correspondiente al proceso de compostaje, se desarrolló en el área de gestión de residuos orgánicos del campus Amazcala. Las pruebas microbiológicas y la evaluación de la capacidad solubilizadora se efectuaron en los laboratorios del Centro de Investigaciones Aplicadas en Biosistemas (CIAB). Todas estas actividades tuvieron lugar en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro.

7.1 Aislamiento de las fases mesofílicas del compostaje la microbiota solubilizadora de fósforo y estimularla con las nanoestructuras de SiO_2 para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora

7.1.1 Proceso de compostaje

El estudio se realizó en el Campus Amazcala, donde se lleva a cabo un proceso activo de compostaje de residuos orgánicos. Según Ortega-Torres et al. (2021), este proceso se divide en cuatro etapas claramente definidas: una fase mesofílica inicial de aproximadamente 10 días, seguida por una fase termofílica que dura alrededor de 5 semanas, luego una fase de enfriamiento o mesofílica III de aproximadamente 2 semanas, y finalmente la fase de maduración.

Para el experimento, se conformaron dos pilas de compostaje utilizando estiércol procedente del establo lechero del campus. Cada pila estuvo conformada por lotes de estiércol apilados con dimensiones de 2 metros de altura y 1 metro de ancho, y se mantuvieron durante un período de 12 semanas. Se aplicaron en promedio 12 litros de agua cada 3 a 5 días para conservar una humedad adecuada, evaluada mediante la prueba de humedad de puño. La aireación se realizó manualmente una vez por semana, y la temperatura se registró en cinco puntos: tres en diferentes profundidades centrales y dos en los laterales (izquierda y derecha) durante todo el proceso (Alavi et al., 2017).

7.1.2 Medios mínimos solubilizadores y mineralizadores de fósforo utilizados para el aislamiento

7.1.2.1 Medio de solubilización Pikovskaya (PVK)

Para la preparación de este medio se mezcló: 10 g/L de glucosa; 5 g/L de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0,5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/L de NaCl, 0,1 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g/L de KCl, 0,5 g/L de extracto de levadura, 0,002 g/L de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,002 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 g/L de agar-agar y 1000 mL de agua destilada, después se esterilizó la solución en autoclave y se guardó en refrigeración durante 24 h. En una campana de flujo se colocaron 15 μL en cajas de Petri y se guardaron en refrigeración durante 24 h (Fig 1) (Pikovskaya, 1948).

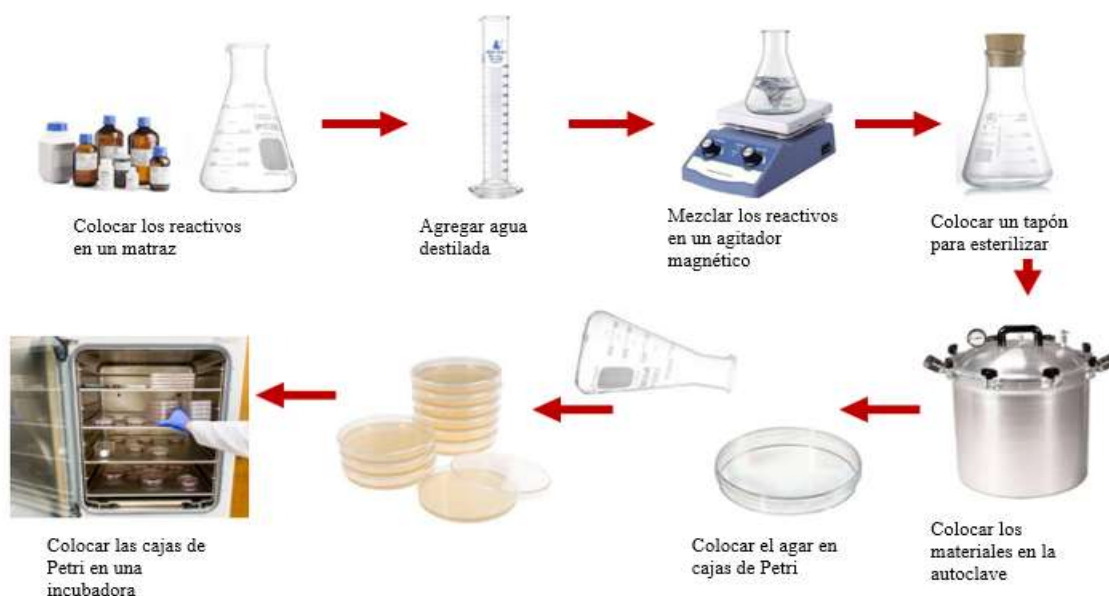


Figura 1. Procedimiento de preparación de medios mínimos de fósforo.

7.1.2.2 Medio p-nitrofenil fosfato (NBRIP)

Para la preparación de este medio se mezcló: 1.089 g de Tris, 1.035 g de ácido maleico, 1.26 g de ácido cítrico, 0.567 g de ácido bórico, agar al 3%, 450 ml de agua destilada y 42.435 mL de P-nitrofenil fosfato. Colocar 150 mL de la solución en tres matraces y se etiquetaron (ácido, básico y neutro), después se modificó el pH con una solución de NaOH al 1 M, en las tres soluciones quedando 6 en ácido, 7 en neutro y 9 en básico. Después se esterilizaron las soluciones en autoclave y se guardaron en refrigeración

durante 24 h. En una campana de flujo se colocaron 15 µL de cada solución en cajas de Petri y se guardaron en refrigeración durante 24 h (Fig 1).

Para la evaluación enzimática, cada muestra fue incubada en medios mínimos líquidos y posteriormente centrifugada a 10,000 rpm durante 5 minutos. Luego, se midió la absorbancia del sobrenadante a 420 nm mediante un espectrofotómetro UV-Vis, y los resultados obtenidos se compararon con una curva estándar elaborada a partir de soluciones diluidas en serie de p-nitrofenol.

7.1.3 Aislamiento de microorganismos solubilizadores de fósforo del proceso de compostaje

Se tomaron muestreos de las etapas de compostaje fase 1 y 3 que consistía en tomar muestras de 5 puntos de la composta, donde 3 puntos fueron de la división de la altura de la composta y los otros 3 puntos fueron de la división de la longitud, estos se realizaron con un sacabocados de 3 g, que nos dio un total de 10 g de muestra compuesta, que se mezcló para la uniformidad. De cada muestra de composta de las fases 1 y 3, se pesó 1 g en una balanza analítica, luego se colocaron en tubos falcón estériles a los que se añadieron 10 mL de agua destilada estéril (todo realizado por triplicado). Este procedimiento se llevó a cabo dentro de una campana de flujo laminar. Se realizaron diluciones seriadas hasta alcanzar una concentración de 1×10^{-5} , de esta dilución se inocularon las cajas Petri con los medios mínimos con 300 µL de Pikovskaya (PVK) y medio P-Nitrofenil fosfato (NBRIP) con pH ácido (A), neutro (N) y básico (B), esparciéndose por toda la caja; se incubaron a 30 °C, y se analizó su crecimiento cada 24 h, hasta tener la caja completa de microorganismos solubilizadores de P (Fig 2).

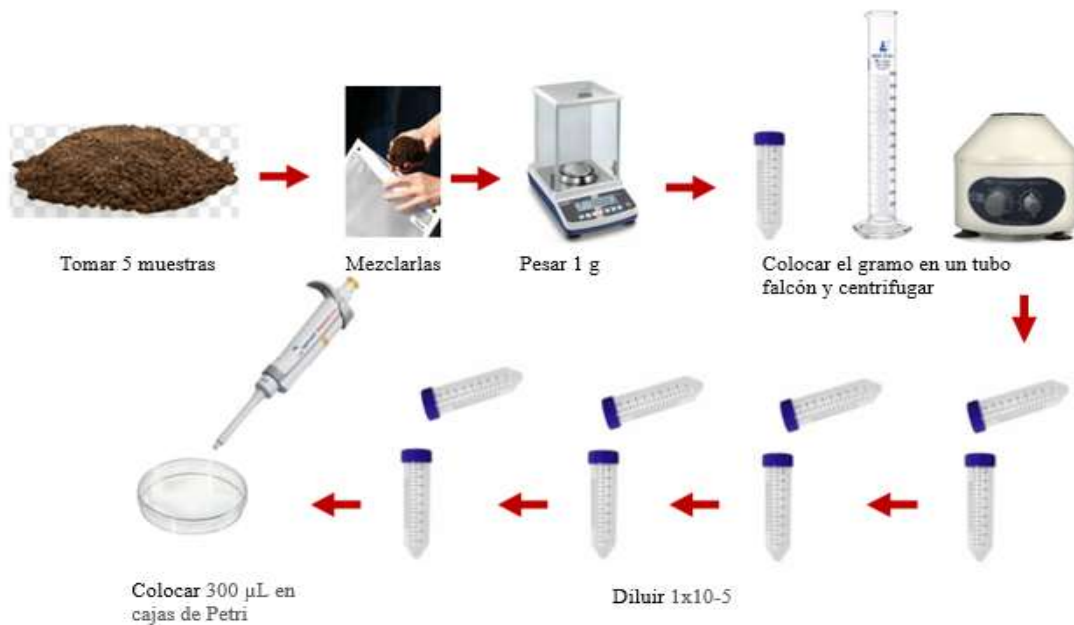


Figura 2. Proceso de aislamiento de los microorganismos solubilizadores de fósforo de las fases mesofílicas del proceso de compostaje.

Posteriormente, los MSF que fueron aislados de una célula individual se colocaron en cajas Petri sucesivas hasta tener el cultivo único (Hii et al., 2020; Ortega-Torres et al., 2021). Los aislados y análisis aquí desarrollados se triplicaron para ser estadísticamente significativos.

7.1.4 Identificación MSF aislados de las fases 1 y 3 del compostaje por medio de tinción gram

Los microorganismos seleccionados y aislados (MSF) durante las fases 1 y 3 del compostaje fueron identificados mediante la tinción de Gram. Esta técnica permite diferenciar bacterias según la composición de su pared celular: las bacterias Gram positivas, que cuentan con una capa gruesa de peptidoglicano, retienen el colorante cristal violeta y se visualizan en color morado; por otro lado, las Gram negativas, que poseen una pared más delgada y una membrana externa, pierden el colorante durante el proceso de decoloración y se tiñen de rosa debido a la safranina. Este procedimiento se realizó en el laboratorio utilizando un microscopio óptico, con el objetivo de clasificar

morfológica y estructuralmente los microorganismos presentes en etapas clave del compostaje

Para llevar a cabo la tinción, se tomó una pequeña muestra de bacterias con un asa estéril y se extendió sobre un portaobjetos limpio junto con una gota de agua estéril. La muestra se dispersó de manera uniforme y se dejó secar al aire; posteriormente, se fijó pasando el portaobjetos por la llama de un mechero. Se aplicó cristal violeta durante un minuto, seguido de un enjuague con agua para eliminar el exceso. Luego, se añadió lugol (solución de yodo) durante un minuto y se enjuagó nuevamente. La muestra fue decolorada con etanol durante 15 a 30 segundos, se enjuagó y finalmente se tiñó con safranina como colorante de contraste durante 30 a 60 segundos. Tras un último enjuague con agua, el portaobjetos se secó y se observó bajo un microscopio óptico con objetivo de inmersión (100x), lo que permitió identificar la reacción de Gram de las bacterias presentes (Rodríguez & Arenas, 2018).

7.1.5 Elicitación de los microorganismos solubilizadores de fósforo aislados del compostaje con las nanoestructuras de SiO₂ para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora.

Para la elicitación de los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF), se utilizaron dos tipos de nanopartículas (NP) de sílice mesoporosa del tipo SBA-15: una en su forma tradicional (denominada S) y otra modificada (denominada C). Ambas nanopartículas fueron proporcionadas por la Dra. Viviana Palos Barba. La principal diferencia entre ambas radica en la longitud de la partícula. Las nanoestructuras fueron sintetizadas mediante el método sol-gel y caracterizadas morfológicamente mediante microscopía electrónica.

Inicialmente, los MSF previamente aislados fueron inoculados en tubos Falcon con LB líquido durante 24 h a 30°C a 200 rpm en orbital MaxQ5000 modelo SHKA5000, seguidamente, se tomó el 5% del volumen total y se transfirió a nuevos tubos Falcon con LB líquido suplementado con las nanoestructuras S y C en concentraciones de 1, 10 y 100 ppm. Las muestras fueron incubadas a 24 h a 30 °C a 200 rpm en un orbital, para permitir la interacción entre los MSF y las nanopartículas. Posteriormente, se sembraron

en medio sólido PVK y medio líquido NBRIP (A, N y B). En PVK, se incubaron a 30 °C y diario durante 6 días se les midió los halos de solubilización. En NBRIP A, N y B, se evaluó la actividad específica enzimática a las 24 h de incubación a 30°C a 420 nm en un espectrofotómetro, siguiendo la metodología descrita por Ortega-Torres (2021).

Todas las pruebas se realizaron por triplicado para asegurar la confiabilidad de los resultados. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA con el fin de determinar la significancia de las diferencias entre los distintos tratamientos.

7.2 Evaluación del efecto de nanoestructuras de SiO₂ tradicional y corta en los por consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo, mediante pruebas en actividad específica enzimática y solubilizadora

7.2.1 Pruebas de biocompatibilidad

Para evaluar la biocompatibilidad entre los 4 microorganismos seleccionados, se empleó medio LB. Se seleccionaron las cuatro cepas bacterianas que mostraron los mejores resultados en el objetivo anterior del estudio. A cada uno de los extremos de las cajas de Petri de medio LB, se inocularon 10 µL de cada una de las cuatro bacterias. Las inoculaciones se realizaron de forma que cada cepa se ubicara en un extremo diferente de la caja, sin mezclarse entre sí. Luego, las muestras se incubaron a 30 °C durante 72 horas. Al finalizar este tiempo, se llevó a cabo una observación visual para detectar la posible formación de halos de inhibición alrededor de las áreas de crecimiento de cada cepa.

7.2.2 Pruebas de los consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo elicitados con SBA15 tradicional y corta en mineralización y solubilización

Para esta prueba, primero los MSF fueron activadas por separado en caldo LB, permitiendo su crecimiento durante 24 h a 30°C a 200 rpm en un orbital. Seguidamente, se tomó el 5% del volumen total y se transfirió en nuevos tubos Falcon con LB líquido suplementado con las nanoestructuras en S y C a una concentración de 100 ppm. Estos cultivos fueron incubados por separado durante 24 h a 30°C a 200 rpm en orbital para permitir la interacción entre los MSF y las nanoestructuras.

Posteriormente, se formaron tratamientos de consorcios de MSF con nanoestructuras S y C a 100 ppm, para se unieron los MSF en medio PDB y se dejaron incubando a las mismas condiciones ya mencionadas, los tratamientos se pueden observar en la Tabla 2. A partir de estos consorcios, se tomó su sobrenadante y el MSF con el sobrenadante, y se evaluó su halo de solubilización en PVK durante 6 días y su actividad específica enzimática de las fosfatasas A, N y B durante 24 h.

Todas las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados fueron analizados mediante un ANOVA, seguido por la prueba de comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$), con el objetivo de identificar las diferencias significativas en los datos. Este análisis se llevó a cabo utilizando el software Statgraphics versión 19.

Tabla 2. Combinaciones para consorcios de los microorganismos.

Medio	Dosis	Consortio										
PVK, A, N y B	C-100 ppm	AB	AC	AD	BC	CD	BD	ABC	ACD	ABD	BCD	ABCD
	S-100 ppm											
	Control											

7.2.4 Identificación de los MSF seleccionados del consorcio por 16 S

7.2.4.1 Extracción de ADN

El primer paso consiste en incubar el pellet bacteriano con 1 ml de buffer Edward y someterlo a sonicación durante 30 minutos, lo que permite romper las membranas celulares y liberar los ácidos nucleicos. A continuación, se eliminan las proteínas y otros restos celulares mediante la adición de una solución para precipitar proteínas. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 minutos y se recuperó el sobrenadante. Para precipitar los ácidos nucleicos, se añade 500 μ L de isopropanol y se deja reposar por 15 minutos, seguido de un lavado con etanol al 97% y una centrifugación a 12,000 rpm durante otros 15 minutos. Después, se retira cuidadosamente todo el etanol, teniendo cuidado de no perder el pellet de ADN, y se seca sobre papel absorbente durante 15 minutos. Por último, se agrega agua destilada y se mezcla hasta que el ADN se disuelva por completo.

7.2.4.2 Calidad, cantidad y pureza del ADN extraído

Cada muestra de ADN extraído se midió utilizando un espectrofotómetro Nanodrop 2000, que proporciona la concentración de ADN presente. Luego, se evaluó la relación A260/A280 (donde 260 nm indica la absorción del ADN y 280 nm la de las proteínas) para determinar la pureza de las muestras en cuanto a la presencia de proteínas y sales. Para valorar la calidad del ADN, cada muestra fue sometida a electroforesis en un gel de agarosa al 2 %, aplicando una tensión de 80 voltios durante 1 hora y 30 minutos. Este procedimiento permite verificar la integridad del ADN, ya que un ADN de buena calidad se manifiesta como bandas claras y definidas, mientras que un ADN degradado muestra bandas difusas o fragmentadas.

7.2.4.3 Secuenciación de ADN

La identificación de los MSF se realizó a través de la secuenciación del gen 16S rRNA.. El producto amplificado por PCR fue enviado al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) en Irapuato, donde se realizó la secuenciación utilizando el método Sanger. Luego, las secuencias obtenidas se compararon con las bases de datos de referencia del NCBI utilizando la herramienta BLAST, con el propósito de identificar los microorganismos.

7.3 Aplicación en composta madura del mejor consorcio MSF con la concentración de actividad específica enzimática y de solubilización obtenida en los resultados anteriores para incrementar el fósforo disponible en la composta madura.

Para esta etapa del estudio, se seleccionó el consorcio MSF (ABCD), y la nanoestructura S a 100 ppm por tener mejor incremento en su actividad metabólica de solubilización de P. De este consorcio se formaron tratamientos con y sin nanoestructuras, como se muestra en la tabla 3, los cuales fueron utilizados para su aplicación en composta madura.

Tabla 3. Descripción de tratamientos del consorcio MSF (ABCD) aplicados a la composta madura

Descripción	Tratamiento
Consorcio elicitado	ME
Sobrenadante elicitado	SE
Consorcio elicitado + sobrenadante	ME+SE
Consorcio no elicitado	M
Sobrenadante no elicitado	S
Consorcio no elicitado + sobrenadante	M+S
Agua isotónica	C

El proceso de aplicación consistió en inocular los tratamientos en composta madura, se hidrató a su capacidad de campo en una relación 1:1 (volumen/peso composta). La composta previamente fue cernida por una malla de 20 mesh para eliminar piedras y material extraño. La composta se extendió en platos para lograr una aplicación uniforme y absorción de los tratamientos, los cuales fueron rociados en una proporción del 20%, y se ajustó la humedad con agua isotónica, de acuerdo con el protocolo establecido por Ortega Torres et al. (2021).

La evaluación de la composta madura se realizó mediante la determinación de fósforo total por el método de Bray, 1945 y fósforo Olsen por el método de Hunter en 1977, análisis que fueron efectuados en el Laboratorio de Suelos del INIFAP, Centro Experimental Bajío.

Todas las pruebas se llevaron a cabo por triplicado y los resultados fueron evaluados mediante un ANOVA, seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$), con el fin de analizar las diferencias presentes en los datos. Este análisis se realizó utilizando Statgraphics versión 19.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Evaluación de la actividad enzimática y solubilizadora de microbiota solubilizadora de fosforo aislada de las fases mesofílicas y estimulada con nanoestructuras de SiO₂

8.1.1 Proceso de compostaje

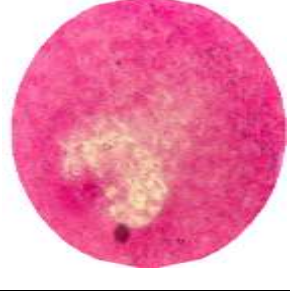
Durante el compostaje de las dos pilas de estiércol de vaca, se lograron aislar microorganismos correspondientes a las fases mesofílicas del proceso. La primera muestra fue tomada en la semana 3, momento en el que ambas pilas alcanzaron temperaturas entre 25 a 35°C, correspondientes al rango característico de la fase mesofílica inicial. Posteriormente en la semana 7 se recolectó la segunda muestra, cuando la temperatura de las pilas descendió nuevamente al rango mesofílico (25–35 °C). Finalmente, la composta fue dejada en maduración hasta la semana 12. En donde, se verificó que la composta había alcanzado una adecuada estabilidad y madurez. Esta condición fue confirmada mediante la prueba del puño, además de observarse un color oscuro y un olor agradable, características típicas de un compost maduro (Valencia, 2021).

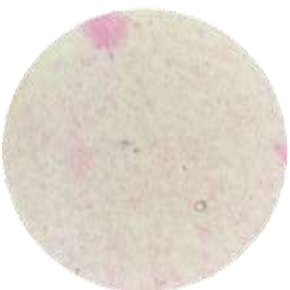
8.1.2 Aislamiento e identificación por tinción de Gram de los microorganismos solubilizadores de fósforo de las fases mesofílicas del compostaje

Los microorganismos solubilizadores de P que se lograron aislar de la fase I (F1) fueron 11 y de la fase III (F3) fueron 9 dando un total de 20 MSF; la mayoría se encontraron en solubilización (PVK), de igual manera en la F1 no se encontró alguno que liberara enzima fosfatasa neutra, esto podría deberse a las diferencias del pH de la composta (Tabla 4).

Tabla 4. Microorganismos solubilizadores de fósforo aislados de las fases mesofílicas del proceso de compostaje en tinción de gram.

Cepa	Forma macroscópica	Forma microscópica	Resultado
F1P1			Gram + Bacilos pequeños y dispersos, violetas
F3P1			Gram + Cocos y bacilos cortos violetas
F1P3			Gram – Bacilos rosados y agrupados
F3P5			Gram – Bacilos pequeños y rosados

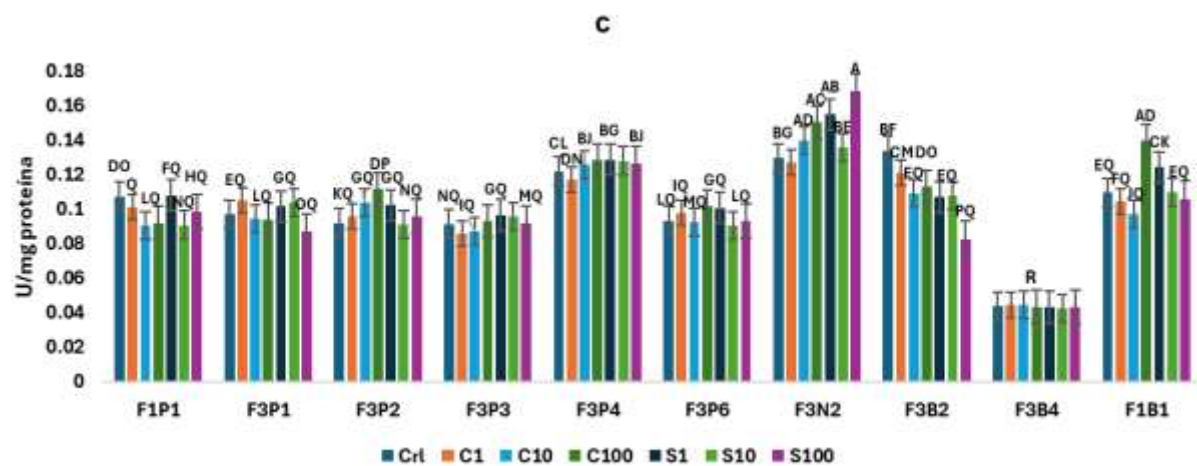
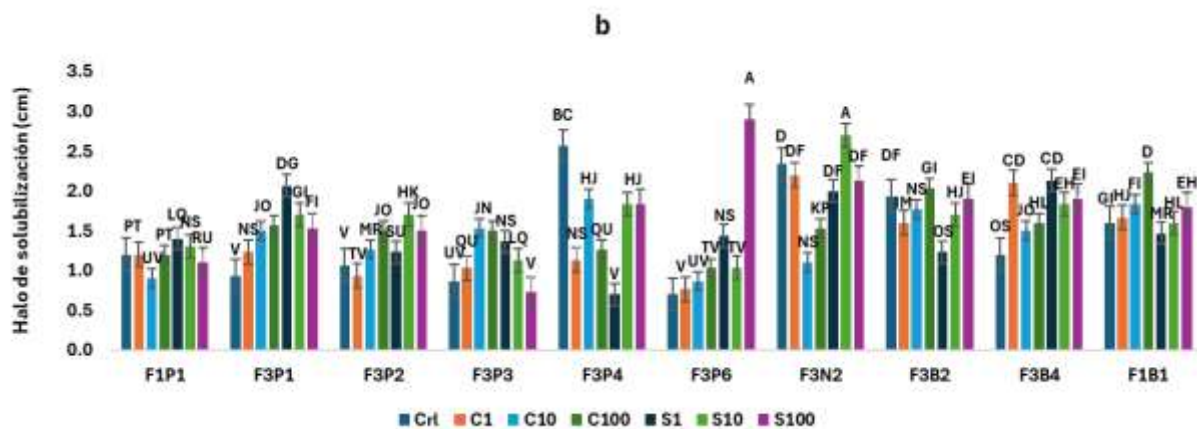
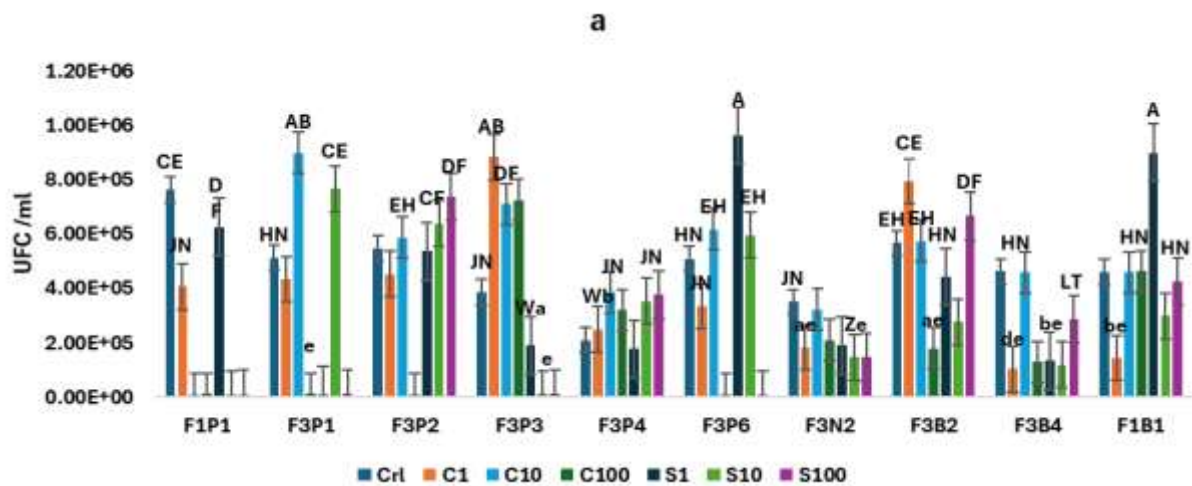
F3P6			Gram – Bacilos rosados y empalizados
F1P5			Gram – Bacilos, diplobacilos y estreptobacilos rosados
F1P6			Gram + Bacilos, diplobacilos y estreptobacilos violetas
F3B1			Gram – Bacilos rosados
F3N2			Gram – Bacilos y diplobacilos agrupados

F3B2			Gram + Cocos pequeños y violetas
F3B4			Gram – Bacilos y cocos rosados
F3A1			Gram – Bacilos y cocos pequeños y rosados
F3N1			Gram – Bacilos, diplobacilos y estreptobacilos rosados
F1B1			Gram – Bacilos empalizados y estreptobacilos rosados

Algunos resultados relacionados con los aislados obtenidos son como el de Bhardwaj et al. (2023), quienes, al realizar un proceso de compostaje con residuos sólidos urbanos, aislaron 15 bacterias en Agar Nutritivo, de las cuales 4 demostraron la capacidad de solubilizar P en medio PVK donde midieron el índice de solubilización donde dos de las bacterias mostraron solubilizar del 70 al 85 %. De manera similar, Swain et al. (2023) aislaron 5 bacterias del género *Bacillus subtilis* a los 6 y 12 meses del compostaje de estiércol de vacas, esto en Agar Nutritivo, estos microorganismos no solo mostraron capacidad para solubilizar P en medio NBRIP, sino también liberar fosfatasas ácidas y alcalinas en medio P-Nitrofenil fosfato. Un hallazgo relevante fue la correlación entre la producción de ácidos orgánicos y la reducción del pH del medio, lo que sugiere que un aumento en la producción de estos compuestos favorece la solubilización del P. Además, el uso de estiércol de vaca como sustrato, al igual que en el estudio de Swain et al., sugiere que este tipo de residuo orgánico puede ser una fuente importante de microorganismos funcionales si se les da un seguimiento adecuado durante el proceso de maduración del compost.

8.1.3 Elicitación de los microorganismos solubilizadores de fósforo aislados del compostaje con las nanoestructuras de SiO₂ para analizar su actividad específica enzimática y solubilizadora.

De los MSF aislados, solamente diez cepas presentaron su crecimiento en los distintos medios selectivos del P, estas cepas fueron elicitadas con las NPs S y C, y se midió su actividad específica enzimática de fosfatasa ácida, neutra y básica y el halo de solubilización (Fig 3). Los resultados indican que las NPs no tienen un comportamiento uniforme en la elicitación de los MSF, debido a que se observa que varía por la concentración, el tipo y el microorganismo.



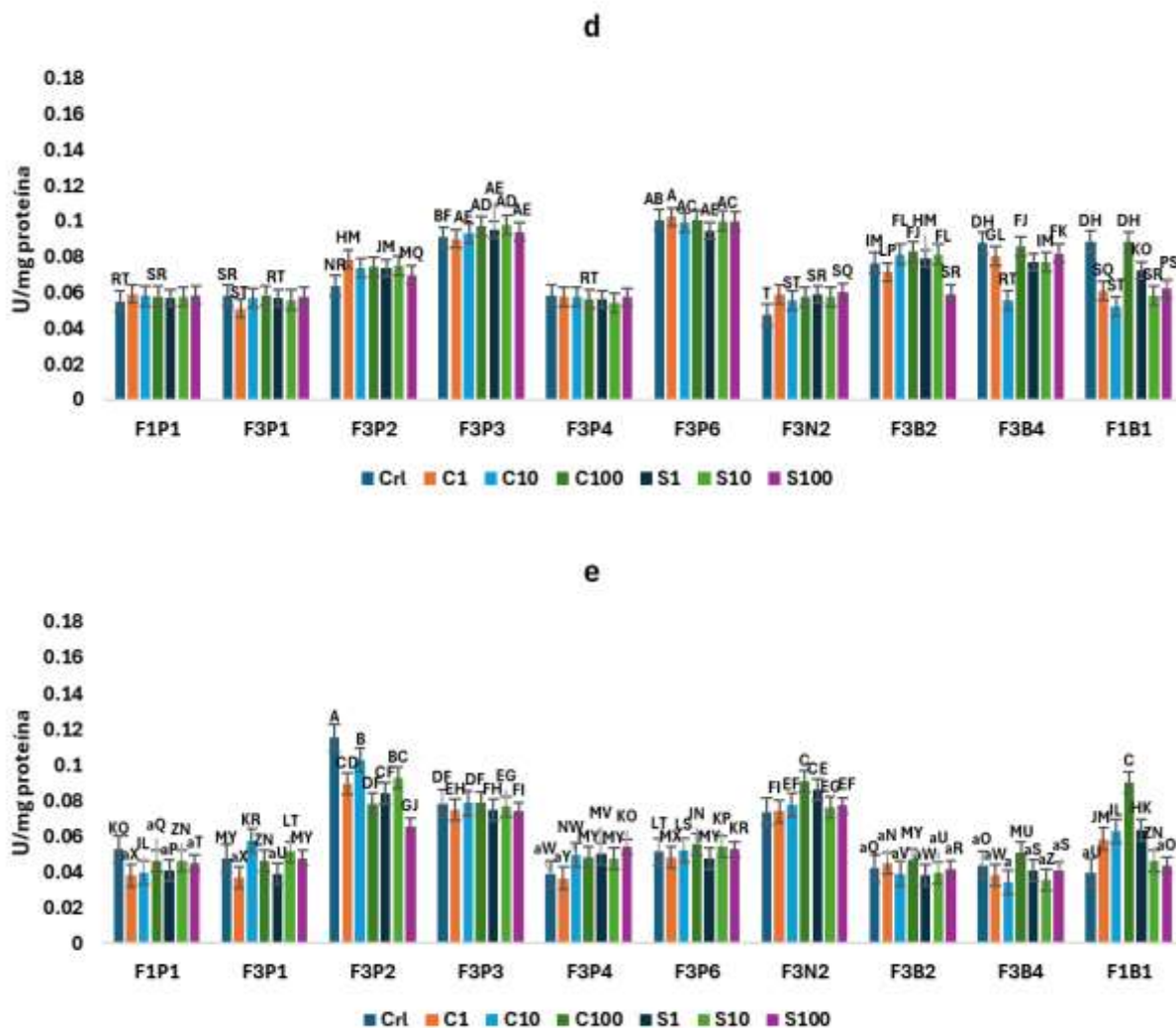


Figura 3. Microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF) aislados del compostaje con la capacidad metabólica de solubilizar y mineralizar en cada pH y elicitados con nanoestructuras de SiO₂ SBA15 tradicional (S) y modificada (C). a) Unidades Formadoras de Colonias (UFC). b) halos de solubilización de fósforo en PVK (cm). c) actividad específica enzimática fosfatasa ácida (A) (U/mg de proteína). d) U/mg de proteína de fosfatasa neutra (N). e) U/mg de proteína de fosfatasa básica (B). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$.

Las propiedades de las NPs de SiO₂ funcionan como elicitores en microorganismos, esto se confirma en el resultado de la cepa F3P6 (figura 3b), con la S100 generó un diámetro de halo de solubilización tres veces mayor (3 cm) en comparación con el control (0.9 cm). Esto confirma lo reportado por Hincapié-Rojas et al. (2020). De forma similar, en otras cepas MSF el diámetro del halo en sus controles varió entre 0.5 y 1 cm, en cambio, con

la aplicación de las NPs, el incremento fue de 1 a 2.5 cm (Fig. 3b). Estos resultados indican que ciertas concentraciones de NPs fomentan una mayor producción y liberación de ácidos orgánicos involucrados en la solubilización del P, coincidiendo con lo reportado por Ferrusquía-Jiménez et al. (2022), quienes observaron un halo de 4.6 cm con la aplicación de 100 ppm de NPs de SiO₂, en comparación con 3.6 cm en el control, siendo la diferencia mayor 1 cm, similar a lo que se obtuvo, inclusive siendo mayor en algunos de nuestros resultados.

Por otro lado, en cuanto a la actividad específica enzimática fosfatasa ácida, los MSF F3P4, F3N2 y F1B1 fueron las que presentaron concentración más alto (0.13 a 0.17 U/mg de proteína) en comparación con las demás MSF, que oscilaron entre 0.4 y 0.12 U/mg de proteína. Asimismo, se constató que, en la mayoría de los casos, las NPs no afectaron la producción enzimática, aunque hubo excepciones, como en F3P2, donde las NPs provocaron una disminución en su actividad fosfatasa básica (Fig 3e).

En cuanto a la producción de enzimas fosfatasas neutra, en algunos MSF no se detectaron diferencias significativas entre las NPs y el control (Fig 3d); sin embargo, al igual que en los resultados anteriores, se evidenció un efecto sinérgico MSF como F3P3, F3P6, F3N2 y F1B1 al aplicar 100 ppm de ambas NPs, se destacaron por presentar una respuesta diferente frente a las NPs, mientras que en otras cepas se observaron efectos adversos (Fig 3).

Con base en estos resultados, se seleccionaron cuatro MSF (F3P3, F3P6, F3N3 y F1B1) y una concentración de 100 ppm. Esta selección se fundamentó en la observación de que la mayoría de los MSF no presentaron un comportamiento consistente frente a las distintas concentraciones aplicadas; en cambio, los MSF seleccionados mostraron una respuesta constante, diferenciada y destacada en solubilización y mineralización. La elección de la concentración a 100 ppm con la C y S porque fue la más constante en el incremento de su metabolismo relacionado con la mineralización y solubilización de P, ya que otras concentraciones no generaron respuestas significativas ni un patrón claro de comportamiento en la actividad enzimática ni en la liberación de ácidos orgánicos.

8.2 Evaluación del efecto de nanoestructuras de SiO₂ en la producción de enzimas y ácidos orgánicos exudados por consorcios de microorganismos, mediante pruebas con sobrenadantes, para determinar el tratamiento más efectivo

8.2.1 Pruebas de biocompatibilidad

En las pruebas de biocompatibilidad realizadas con los cuatro MSF seleccionados, donde F3P3, F3P6, F3N3 y F1B1, se observó que ninguna de ellas presentó halo de inhibición. Este resultado indica que los MSF no mostraron efectos adversos ni inhibitorios sobre otras especies o en condiciones de contacto, lo que sugiere que son biocompatibles en las condiciones evaluadas. La ausencia de halos de inhibición refuerza el potencial de estas cepas para aplicaciones en ambientes donde la compatibilidad biológica es un factor clave, demostrando que no ejercen efectos inhibitorios sobre otros microorganismos o estructuras (Fig 4) (Kotula et al., 2021).

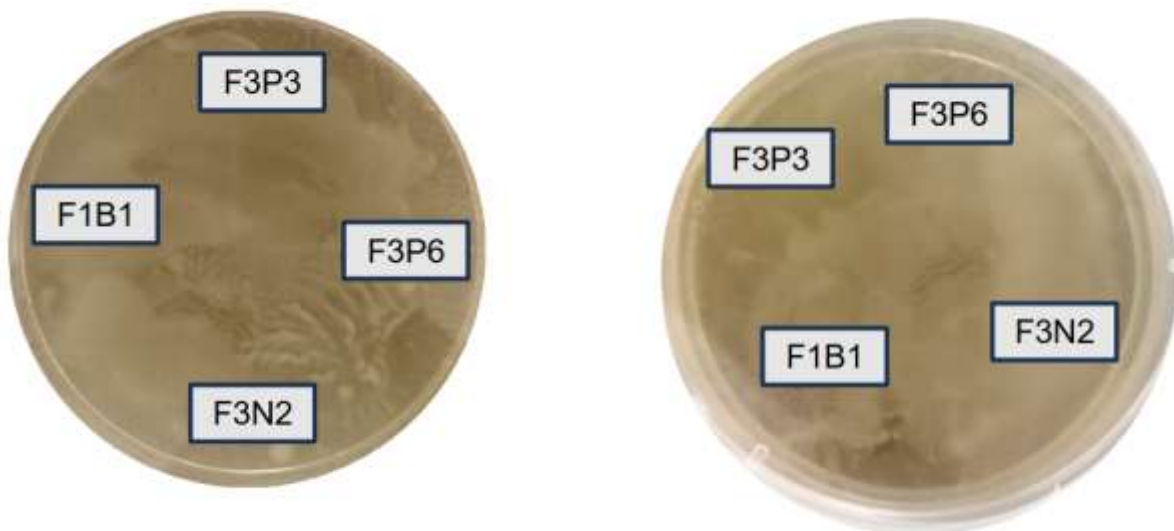
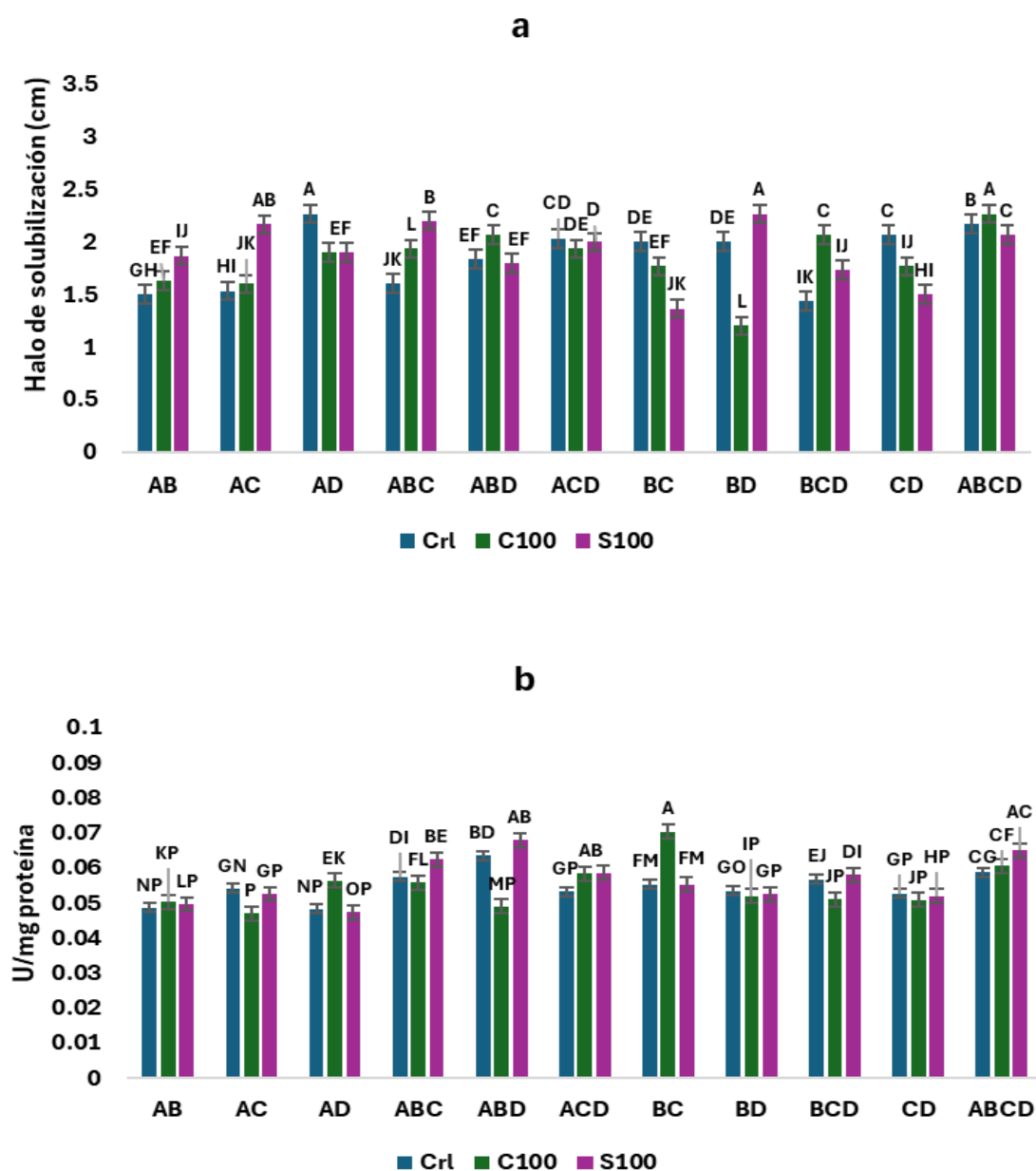


Figura 4.. Pruebas de biocompatibilidad de los microorganismos solubilizadores de fósforo de la construcción del consorcio ABCD.

8.2.2 Pruebas de los exudados por los consorcios de microorganismos solubilizadores de fósforo elicitados con nanoestructuras en mineralización y solubilización

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas en varios consorcios en comparación con el control, especialmente con la S100; sin embargo, la respuesta varió según el consorcio y el tipo de nanopartícula (Fig. 5).



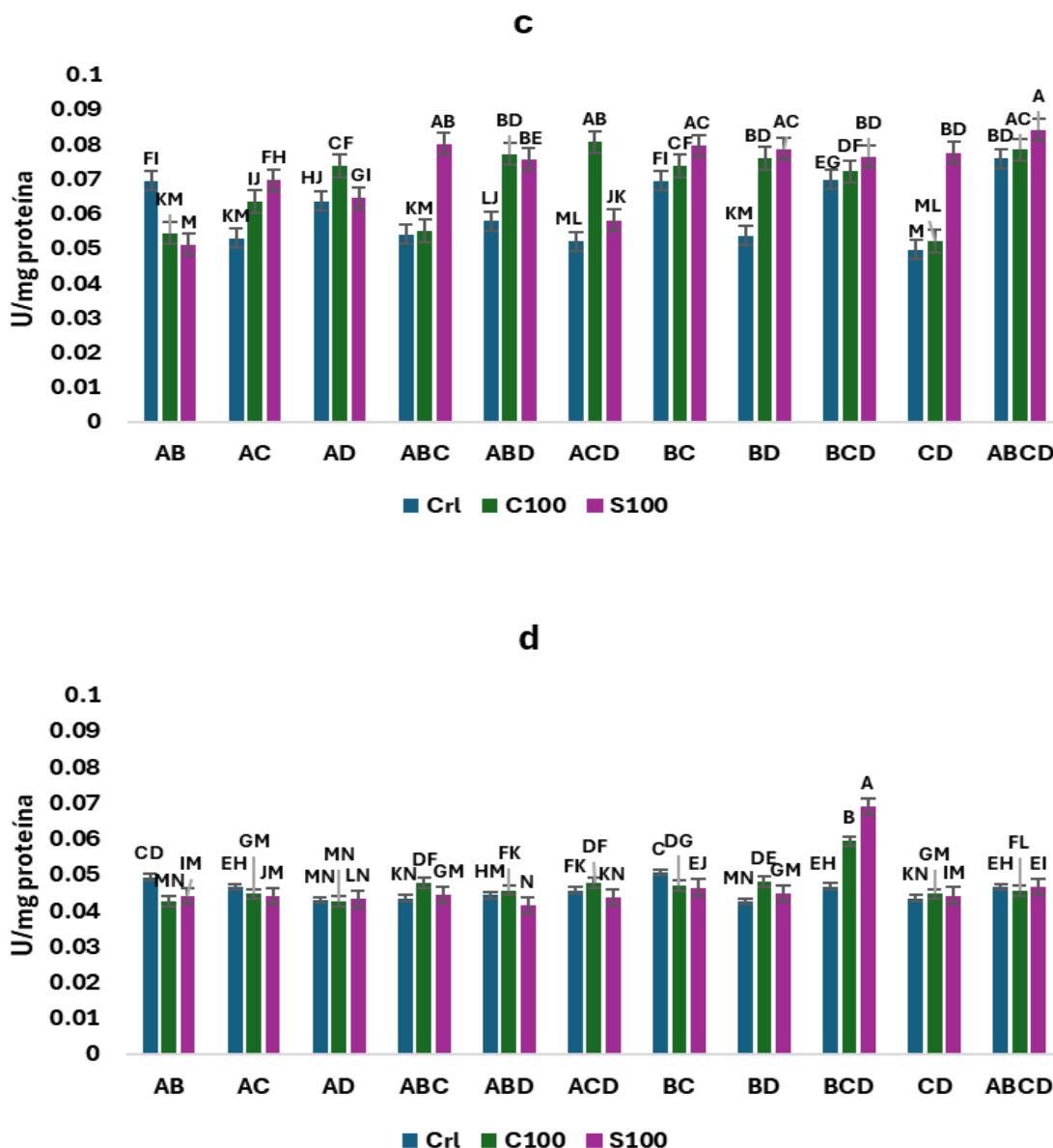


Figura 5. Construcción de consorcio solubilizador de fósforo nativo del compostaje elicitados con nanoestructuras de SiO₂ SBA-15 tradicional (S) y modificada (C) en una concentración de 100 ppm. a) halo de solubilización. b) actividad específica enzimática fosfatasa ácida (A). c) actividad específica enzimática fosfatasa neutra (N). d) actividad específica enzimática fosfatasa básica (B). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$.

En la Fig 5a se puede apreciar que S100 fue la que tuvo elicitación en los diferentes consorcios y en un caso como en el ABCD con S100 y como en AD no hubo elicitación

siendo el control el mayor; esto nos dice que de lo obtenido de las cepas aisladas al construir consorcios no se comportan de una manera lineal, sino que es de una forma específica de cada consorcio, pero demostrando que las NPs utilizadas lograron su efecto sinérgico. En las fosfatasas ácidas se puede observar que el grupo BC con C100, ABD y ABCD con S100 muestran elicitación con respecto a los demás consorcios (Fig 5b). En la fosfatasa neutra el uso de las NPs muestra un incremento respecto al control y un caso aislado de AB donde se observó lo contrario (Fig 5c); y en la fosfatasa básica de forma general se mantuvieron en el mismo rango la elicitación con NPs que el control, teniendo un caso aislado en BCD donde si hubo elicitación C100 y S100 (Fig 5d).

El consorcio ABCD de forma general muestra un incremento y/o cercanía a los mejores resultados obtenidos; siendo que con la C100 presentó mayor halo de solubilización en comparación con los otros consorcios; y con la S100 se obtuvo en la actividad específica enzimática fosfatasa A y N, y en B no hubo diferencia estadística e igualdad mayoritaria con los demás consorcios, siendo por esto el consorcio ABCD el seleccionado. De estos resultados se puede analizar que, dependiendo el tipo de medio de cultivo, del microorganismo o de la NPs será el efecto sinérgico o inhibitorio. La aplicación de la S100 se puede apreciar que se mantiene constante la elicitación en cada resultado en comparación con C100 y el control. El consorcio ABCD, mostró mayor estabilidad ante la aplicación de NPs, lo cual podría deberse a una que hay una interacción sinérgica entre los MSF donde puede estar favoreciendo su metabolismo, ya que se están sumando sus beneficios y esto está favoreciendo a la solubilización del P (Díaz-Chuquizuta et al., 2024) (Fig 5b y c).

8.2.3 Identificación del consorcio

8.2.3.1 Extracción de ADN

De la metodología empleada se obtuvieron los resultados que se muestran en la siguiente tabla donde se obtuvo una cantidad de 50 µl de ADN con la pureza descrita (Tabla 6).

Tabla 5. Valores de calidad de ADN

Bacteria	µg/ml	260/230	260/280
F3P3	270±0.10	1,88±0.15	0,848±0.15
F3P6	432±0.10	1,5±0.15	0,6±0.15
F3N2	305±0.10	1,28±0.15	2,05±0.15
F1B1	3.470±0.10	1,90±0.15	1,81±0.15

8.2.3.2 Resultados de secuenciación de ADN

F3P3

Las secuencias de F3P3 analizadas fueron identificadas como *Proteus vulgaris* según la secuenciación del gen del ADN ribosomal 16S (94% de identidad con *Proteus vulgaris* en el análisis BLASTn).

F3P6

Las secuencias de F3P6 analizadas fueron identificadas como *Proteus mirabilis* según la secuenciación del gen del ADN ribosomal 16S (97% de identidad con *Proteus mirabilis* en el análisis BLASTn).

F3N2

Las secuencias de F3N2 analizadas fueron identificadas como *Proteus mirabilis* según la secuenciación del gen del ADN ribosomal 16S (94% de identidad con *Proteus mirabilis* en el análisis BLASTn).

F1B1

Las secuencias de F1B1 analizadas fueron identificadas como *Proteus vulgaris* según la secuenciación del gen del ADN ribosomal 16S (48% de identidad con *Proteus vulgaris* en el análisis BLASTn).

8.3 Resultados de aplicar en composta madura la mayor concentración de actividad específica enzimática y de solubilización obtenida en los resultados anteriores para incrementar el fósforo disponible para la agricultura

En los resultados presentados la elicitación de S100 y el consorcio logró una liberación de P disponible para las plantas hasta 3 veces más que el control (Fig 7).

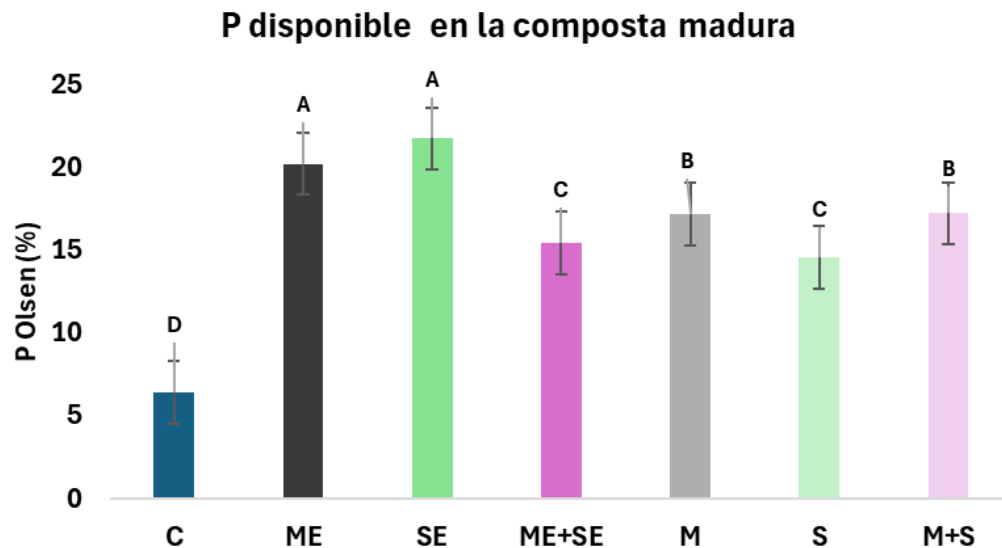


Figura 6. Conversión del P Total a P Olsen en composta madura de las pruebas de solubilización de fósforo, con agua desionizada como control (C), consorcio de los cuatro microorganismos elicitados con nanoestructura de SiO₂ tradicional con 100 ppm (ME), exudado del consorcio elicitado con nanoestructuras de SiO₂ tradicional con 100 ppm (SE), consorcio elicitado con nanoestructuras más sobrenadante (ME+SE), consorcio sin nanoestructuras (M), sobrenadante del consorcio sin nanoestructuras (S) y consorcio más sobrenadante sin nanoestructuras (M+S). Las diferencias significativas entre los tratamientos se explicaron por las diferentes letras del alfabeto según la prueba Tuckey con un valor de $p \leq 0,05$

Este incremento en la disponibilidad de P es consistente con informes anteriores, como el de Ortega-Torres et al. (2021), quienes emplearon diferentes tratamientos incluidos un cóctel de enzimas fosfatasa y fitasa de *Pseudomona aeruginosa*, dado que es un microorganismo exógeno y la mejor forma de lograr la liberación de hasta un 12% del P total, fueron con sus metabolitos mencionados. En este estudio se logró liberar hasta

el 21.75% del P total en composta madura, logrando esto al utilizar cepas nativas del compostaje relacionados con el ciclo del P y al construir un consorcio con la posibilidad de solubilizar y mineralizar, sumando los beneficios de los microorganismos y de sus metabolitos (Díaz-Chuquizuta, et al., 2024). Unido a esto se adiciono la elicitación con la NPs SBA-15, esto se demostró por los resultados de un cóctel enzimático de fosfatasas y ácidos orgánicos. De forma similar, este resultado suponemos que se debe a que las cepas fueron aisladas del mismo compostaje logrando así una mayor eficiencia de actividad sobre los sustratos que no se habían utilizado o liberado en el proceso a composta madura.

9. CONCLUSIÓN

Se aislaron microorganismos solubilizadores de P presentes en las fases mesofílicas del proceso de compostaje, utilizando medios mínimos de P (Pikovskaya y NBRIP básica, neutra y ácida). A partir de estos aislamientos, se obtuvieron 20 MSF, los cuales fueron posteriormente elicitados con dos tipos de NPs SBA-15 tradicional y modificada, evaluándolos en todos los medios mencionados para determinar su capacidad de solubilización y mineralización de fósforo. De esta evaluación, se seleccionaron diez cepas que demostraron actividad positiva en los medios, de las diez cepas inicialmente seleccionadas por su capacidad de solubilización y mineralización, solo cuatro respondieron positivamente a la elicitación con ambas nanoestructuras. Las seis cepas restantes fueron descartadas debido a la falta de respuesta favorable o a los efectos negativos provocados por las nanopartículas, las cuales inhibieron su actividad o presentaron resultados inferiores en comparación con los controles sin tratamiento. Entre ellas, cuatro cepas destacaron por su alto potencial de solubilización y mineralización, con concentraciones de 100 ppm con ambas NPs. Con estas cepas se construyeron consorcios microbianos para aplicar en composta madura. Los resultados revelaron que la NP S tuvo un efecto más favorable cuando se aplicó al consorcio ABCD, en comparación con los demás consorcios. Asimismo, al aplicar este consorcio en composta madura, se logró solubilizar hasta tres veces más fósforo que el control, alcanzando un 21.75% de solubilización de P total mediante la aplicación de sus metabolitos. Este valor superó lo reportado por Ortega-Torres, quien obtuvo una solubilización del 12 % en condiciones similares. En conclusión, el efecto de las nanoestructuras sobre la actividad microbiana depende de la interacción entre el tipo de MSF, la NP y la concentración aplicada. Estos resultados destacan el potencial del uso combinado de microorganismos específicos y NPs para mejorar la biodisponibilidad del P en sistemas de compostaje.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A. (2020). Aislamiento de bacterias solubilizadoras de fosfato, del suelo cultivado con papa (*Solanum tuberosum* L.).
- Ahire, S. A., Bachhav, A. A., Pawar, T. B., Jagdale, B. S., Patil, A. V., & Koli, P. B. (2022). The Augmentation of nanotechnology era: A concise review on fundamental concepts of nanotechnology and applications in material science and technology. In *Results in Chemistry* (Vol. 4). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100633>
- Billah, M., Khan, M., Bano, A., Hassan, T. U., Munir, A., & Gurmani, A. R. (2019). Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, 36(10), 904–916. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>
- Bhardwaj, P., Chauhan, A., Ranjan, A., Mandzhieva, SS, Minkina, T., Mina, U., Rajput, V. D. y Tripathi, A. (2023). Evaluación de la actividad promotora del crecimiento de bacterias aisladas de compost de residuos urbanos en *Solanum lycopersicum* L. *Horticulturae*, 9 (2), 214. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020214>
- Boroumand, N., Behbahani, M., & Dini, G. (2020). Combined Effects of Phosphate Solubilizing Bacteria and Nanosilica on the Growth of Land Cress Plant. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(1), 232–243. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00126-8>
- Bray, R.H. and L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, inorganic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59:39-45.
- Budhani, S., Egboluche, N. P., Arslan, Z., Yu, H., & Deng, H. (2019). Phytotoxic effect of silver nanoparticles on seed germination and growth of terrestrial plants. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 37(4), 330–355. <https://doi.org/10.1080/10590501.2019.1676600>
- Cabezas Gutiérrez, A., Camus Araya, F., Condori, W. E., Andrés González Vallejos, F., & Mazuela Águila, P. (2022). El silicio (Si) y su efecto mitigador del estrés salino en cultivos hortícolas.
- Dos Santos, S. M. L., Nogueira, K. A. B., De Souza Gama, M., Lima, J. D. F., Da Silva Júnior, I. J., & De Azevedo, D. C. S. (2013). Synthesis and characterization of ordered mesoporous silica (SBA-15 and SBA-16) for adsorption of biomolecules. *Microporous and Mesoporous Materials*, 180, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.06.043>

Echeverría, A. (2017). Efecto de Factores Abióticos y Bióticos sobre la Estructura de la Comunidad Microbiana del Suelo en un Ambiente Oligotrófico.

Educación ambiental. (2011). Elementos de Ecología. <http://www.jmarcano.com/nociones/minimo.html>

Fernández, M. 2007. Sobre los de la caña de azúcar. Red de Revistas Científicas de América Latina. CIDCA. El Caribe, Portugal. 41(2):51-57.

Ferrusquía-Jiménez, N. I., González-Arias, B., Rosales, A., Esquivel, K., Escamilla-Silva, E. M., Ortega-Torres, A. E., & Guevara-González, R. G. (2022). Elicitation of *Bacillus cereus*-Amazcala (B.c-A) with SiO₂ Nanoparticles Improves Its Role as a Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) in Chili Pepper Plants. *Plants*

García, O. (2019). Bacterias rizosféricas y endófitas solubilizadoras de fosfato aisladas de *Asparagus officinalis* L. y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas. *Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Nacional*. https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/9134/Garc%c3%ada_Uca%c3%b1ay_Olga_Elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Giannini, A. P., Andriulo, A. E., & Wyngaard, N. (2022). Fin de las reservas de fertilizantes fosfatados: ¿realidad o restricciones geopolíticas? FAVE Sección Ciencias Agrarias, 21(2), 37–42. <https://doi.org/10.14409/fa.v21i2.12003>

Gimenez-Bañón, M. J., Paladines-Quezada, D. F., Moreno-Olivares, J. D., Cebrián-Pérez, A., Bleda-Sánchez, J. A., Fernández-Fernandez, J. I., & Gil-Muñoz, R. (2023). Nanoelicitores: una alternativa para aumentar la composición fenólica de los vinos de Monastrell. BIO Web of Conferences, 56, 01035. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601035>

Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina Y Cirugía*, 27(2). <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>

Haghighi M, Afi fi pour Z, Mozafarian M (2012) The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. J Biol Environ Sci 6(16):87–90

Hakim S, Naqqash T, Nawaz MS, Laralb I, Siddique MJ, Zia R, Mirza MS, & Imran A. (2021). Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:617157. Doi: 10.3389/fsufs.2021.617157.

Hincapié-Rojas, D. F., Rojas-Hernández, S. P., Castaño-González, F., Parra-Castaño, K. N., & Giraldo-Torres, L. R. (2020). Mesoporous silica nanoparticles obtention, functionalization and biomedical applications: A review. In DYNA

- (Colombia) (Vol. 87, Issue 215, pp. 239–253). Universidad Nacional de Colombia. <https://doi.org/10.15446/DYNA.V87N215.88586>
- Hunter, A. 1973. Methods commonly used for soil analysis in cooperating countries. International soil fertility evaluation and improvement project. North Carolina State University.
- Kauwenbergh, S. van. (2010). World Phosphate Rock Reserves and Resources.
- Kumar, S., Malik, M. M., & Purohit, R. (2017). Synthesis Methods of Mesoporous Silica Materials. *Materials Today: Proceedings*, 4(2), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.032>
- Kotula, H. J., Peralta, G., Frost, C. M., Todd, J. H., & Tylianakis, J. M. (2021). Predicting direct and indirect non-target impacts of biocontrol agents using machine-learning approaches. *PLoS ONE*, 16(6 June). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252448>
- Lambers, H., Shane, M. W., Cramer, M. D., Pearse, S. J., & Veneklaas, E. J. (2006). Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. In *Annals of Botany* (Vol. 98, Issue 4, pp. 693–713). <https://doi.org/10.1093/aob/mcl114>
- Macedo, G. (2018). TRANSFERENCIA DE 15N-ORGÁNICO Y COLONIZACIÓN INDUCIDA CON NANOPARTÍCULAS POR BACTERIAS ENDÓFITAS EN PLANTAS DE BANANO.
- Magaña-López, E., Palos-Barba, V., Zuverza-Mena, N., Vázquez-Hernández, M. C., White, J. C., Nava-Mendoza, R., Feregrino-Pérez, A. A., Torres-Pacheco, I., & Guevara-González, R. G. (2022). Nanostructured mesoporous silica materials induce hormesis on chili pepper (*Capsicum annuum* L.) under greenhouse conditions. *Heliyon*, 8(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09049>
- Matichenkov, V. V., & Kosobrukhov, A. A. (2004). SI EFFECT ON THE PLANT RESISTANCE TO SALT TOXICITY.
- Monroy Miguel, R. (2019). INTERACCIÓN NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA-BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EN PLANTA DE LECHUGA CAMPUS MONTECILLO POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA.
- Mora-Quilismal, R., Cuaical-Galárraga, E. T., García-Bolívar, J., Revelo-Ruales, W., Puetate-Mejía, V. L. M., Aguila-Alcantara, E., & Ruiz-Sánchez, M. (2021). Biofertilización con bacterias solubilizadoras de fósforo y hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de la papa. In *Cultivos Tropicales* (Vol. 42, Issue 2). <http://ediciones.inca.edu.cu>

- Nalwa, H. S. (2004). Encyclopedia Of Nanoscience And Nanotechnology. American Scientific Publishers. Vol 8. pp. 239–258. ISBN: 9781588830647.
- Ortega-Torres, A. E., Rico-García, E., Guzmán-Cruz, R., Torres-Pacheco, I., Tovar-Pérez, E. G., & Guevara-González, R. G. (2021). Addition of phosphatases and phytases to mature compost to increase available phosphorus: A short study. *Agronomy*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/agronomy11122555>
- Paladines, D. (2021). “Optimización del momento de aplicación de elicitores para mejorar la calidad de las uvas y vinos de la variedad Monastrell.” <https://www.researchgate.net/publication/361984350>
- Palma, A. (2022). Microorganismos solubilizadores de fósforo (P) y potasio (K) como alternativa biotecnológica para una agricultura sustentable.
- Palos-Barba, V., Moreno-Martell, A., Hernández-Morales, V., Peza-Ledesma, C. L., Rivera-Muñoz, E. M., Nava, R., & Pawelec, B. (2020). SBA-16 cage-like porous material modified with APTES as an adsorbent for Pb²⁺ ions removal from aqueous solution. *Materials*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/ma13040927>
- Pikovskaya, R. I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiology*, 17, 362-370. <https://www.scienceopen.com/document?vid=44a8aa7f-fad0-4038-a97b-a766d1a3b6fb>
- Popat, A., Liu, J., Hu, Q., Kennedy, M., Peters, B., Lu, G. Q. (Max), & Qiao, S. Z. (2012). Adsorption and release of biocides with mesoporous silica nanoparticles. *Nanoscale*, 4(3), 970–975. <https://doi.org/10.1039/C2NR11691J>
- Rajput, V. D., Minkina, T., Feizi, M., Kumari, A., Khan, M., Mandzhieva, S., Sushkova, S., El-ramady, H., Verma, K. K., Singh, A., van Hullebusch, E. D., Singh, R. K., Jatav, H. S., & Choudhary, R. (2021). Effects of silicon and silicon-based nanoparticles on rhizosphere microbiome, plant stress and growth. In *Biology* (Vol. 10, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biology10080791>
- Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2018). MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO. www.biocen.cu
- Rodríguez PA, Arenas R. Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. 2018;16 (2):166-167.
- Roman, Pilar., Martínez, M. M., & Pantoja, Alberto. (2013). Manual de compostaje del agricultor: experiencias en América Latina. FAO.

- Ruiz-Chutan, J. A., Berdúo-Sandoval, J. E., Sacbajá, A., Kalousová, M., Lojka, B., Fernandez, E., Žiarovská, J., & Sanchez-Perez, A. (2021). Eficiencia de solubilización de fósforo de aislados nativos guatemaltecos de *Pseudomonas fluorescens*. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 8(2), 184–201. <https://doi.org/10.36829/63cts.v8i2.923>
- Sánchez, J. (2023). Factores bióticos y abióticos: qué son y diferencias.
- Sandanakirouchenane, A., Haque, E., & Geetha, T. (2017). Recent Studies on N₂ Fixing Burkholderia Isolates as a Biofertilizer for the Sustainable Agriculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 2780–2796. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.329>
- Santos. (2020). Mejoramiento de la fertilización fosfatada en la asociación ryegrass y trébol rojo mediante el uso de bacterias solubilizadoras de fosfato. *Tesis de Pregrado. Pontificia Universidad Javeriana*, 1–121.
- Suriyaprabha R, Karunakaran G, Yuvakkumar R, Prabu P, Rajendran V, Kannan N (2012) Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica nanoparticles in soil. *J Nanopart Res* 14(12):1–14. doi: 10.1007/s11051-012-1294-6
- Tejeda Villagómez, E. A., Hernandez-Adame, L., Nieto Navarro, F., & Anzaldo Montoya, M. (2022). Nanopartículas de silicio como vehículos de transporte para moléculas de interés agrícola. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 16(30), 1e–20e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69732>
- Urcola, H. (2022). Precio de los Fertilizantes y Costos de Producción. www.bitly.com/indicadores-economicos
- Vargas-Barrantes, P., & Castro-Barquero, L. (2019). Aislamiento Y Evaluación De Microorganismos Solubilizadores. *Agronomía Costarricense*, 43(1), 47–68.
- Vargas-Martinez, G., Betancourt-Galindo, R., Juárez-Maldonado, A., Sánchez-Vega, M., Sandoval-Rangel, A., & López, A. M. (2023). Impacto de NPsZnO y microorganismos rizosféricos en el crecimiento y biomasa del tomate. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 26(1). <https://doi.org/10.56369/tsaes.4332>
- Zapata, F., & Roy, R. N. (Rabindra N.). (2007). Utilización de las rocas fosfóricas para una agricultura sostenible. FAO.
- Zhao, D., Huo, Q., Feng, J., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures. *Journal of the*

American Chemical Society, 120(24), 6024–6036.
<https://doi.org/10.1021/ja974025i>

Zhao, D., Feng, J., Huo, Q., Melosh, N., Fredrickson, G. H., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores. *Science*, 279(5350), 548–552.
<https://doi.org/10.1126/science.279.5350.548>

Zhao, W., Gu, J., Zhang, L., Chen, H., & Shi, J. (2005). Fabrication of Uniform Magnetic Nanocomposite Spheres with a Magnetic Core/Mesoporous Silica Shell Structure. *Journal of the American Chemical Society*, 127(25), 8916–8917.
<https://doi.org/10.1021/ja051113r>