

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL  
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

**Realización:** Consorcio de bacterias solubilizadoras de fósforo para biofertilizantes

**Prestador de servicio social:**

Corrales Martínez Gary Uziel

**Matricula:**

2182035509

**Asesores:**

Dra. Mariela Hada Fuentes Ponce

No. económico: 34017

Firma:  \_\_\_\_\_

Dr. Iván Pável Moreno Espíndola

No. económico: 32559

Firma:  \_\_\_\_\_

**Lugar de realización:**

Laboratorio de Aguas y Suelos. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

**Fecha de inicio y terminación:**

Del 12 de julio 2022 al 14 de Enero 2023

# Índice

<b>Resumen</b> .....	3
<b>Introducción</b> .....	3
<b>Objetivo</b> .....	4
<b>Objetivos específicos</b> .....	4
<b>Marco Teórico</b> .....	4
<b>Metodología utilizada</b> .....	5
<i>Caracterización molecular de las bacterias</i> .....	6
<i>Pruebas bioquímicas</i> .....	6
<i>Crecimiento y conteo bacteriano</i> .....	6
<b>Objetivos alcanzados</b> .....	8
<b>Discusión y Resultados</b> .....	8
<i>Caracterización molecular y bioquímica de la cepa Burkholderia caledonica</i> .....	9
<i>Preparación de biofertilizante:</i> .....	12
<b>Conclusión</b> .....	13
<b>Recomendaciones</b> .....	14
<b>Literatura citada</b> .....	14

## **Resumen**

El presente trabajo tuvo como objetivo reproducir colonias bacterianas solubilizadoras de fósforo de la cepa *Burkholderia caledonica* a nivel laboratorio para desarrollar una propuesta de biofertilizante, para el uso de los productores de la Mixteca Oaxaqueña.

Se realizó la identificación bioquímica y molecular de la cepa *Burkholderia caledonica* por ser una cepa muy activa en crecimiento y en solubilizar el medio selectivo de fosforo. Así mismo, se determinó el máximo crecimiento de la bacteria por medió de la absorbancia en el espectrofotómetro y se realizó el cálculo de UFC/ml del biofertilizante con los datos del factor de dilución ( $1 \times 10^{-6}$ ) las UFC contadas en cajas (283) y la cantidad de mililitros con la que se inocularon las cajas sembradas (0.5 ml) dando como resultado que el biofertilizante preparado tuvo una cantidad de  $5.6 \times 10^8$  UFC/ml de la cepa *Burkholderia caledonica*. Dicho biofertilizante se usó posteriormente en un experimento en condiciones de invernadero con el cultivo de jitomate.

## **Introducción**

Los biofertilizantes son preparados de microorganismos aplicados al suelo y/o a la planta con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética lo que ayudaría a disminuir la contaminación generada por los agroquímicos sintéticos (Armenta-Bojórquez et al., 2010).

Una de las grandes alternativas que se están haciendo más presentes y utilizadas en producciones agrícolas enfocadas en la sustentabilidad es el uso de biofertilizantes (Bizzozero, 2006). Algunas de las bacterias que se utilizan para estos biofertilizantes se les conoce como solubilizadoras de fósforo, ya que estos microorganismos posibilitan que el fósforo presente en el suelo este disponible para las plantas, sobre todo en suelo cálcareo con valores de pH arriba de 8 (Santillán, 2016).

Los biofertilizantes desempeñan un papel crucial en la promoción de la agricultura sostenible y en la mejora de la productividad agrícola de manera respetuosa con el

medio ambiente. Su adopción puede ser fundamental para abordar los desafíos relacionados con la fertilidad del suelo, la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola, siempre y cuando se acompañan con otras prácticas de conservación de suelos como el uso de mejoradores orgánicos.

## **Objetivo**

Reproducir colonias bacterianas solubilizadoras de fósforo en laboratorio para desarrollar un biofertilizante con la bacteria *Burkholderia caledonica* (solubilizadora de P), para el uso de los productores de la Mixteca Oaxaqueña.

## **Objetivos específicos**

- 1.- Caracterizar molecular y bioquímicamente la bacteria *Burkholderia caledonica*.
- 2.- Desarrollar una técnica para la reproducción de la bacteria *Burkholderia caledonica* a mayor escala para su utilización en campo.

## **Marco Teórico**

### *Biofertilizantes*

El biofertilizante se define como una sustancia que contiene microorganismos vivos que coloniza la rizosfera o el interior de la planta y promueve crecimiento aumentando el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios y/o estímulos de crecimiento cuando se aplica a las semillas, la superficie de las plantas y el suelo. Los biofertilizantes contienen bacterias y hongos que mejoran las características químicas y biológicas del suelo, las soluciones de fosfato y la producción agrícola (Obid et al. 2016).

### *Microorganismos benéficos para el suelo*

Los microorganismos presentes en el suelo son objeto de atención debido a su potencial para proporcionar alternativas biológicas que sean respetuosas con el medio ambiente como sustitutos al uso intensivo de agroquímicos sintéticos. Estos microorganismos desempeñan un papel crucial en la regulación de la fertilidad del

suelo, la gestión de diversos ciclos de nutrientes y contribuyen a la preservación de la diversidad de plantas en los ecosistemas (INECOL, 2021).

#### *Microorganismos solubilizadores de fósforo*

Después del nitrógeno, el fósforo se considera como el elemento más demandante para la producción agropecuaria. Sin embargo, su disponibilidad se ve cada vez más restringida debido a la disminución gradual de sus fuentes naturales, su escasez relativa en el suelo, la alta retención por parte de la matriz del suelo, la ausencia de reposición natural y su movilidad limitada en comparación con otros nutrientes (Beltrán Pineda, 2014).

Los microorganismos que están involucrados en la transformación de fósforo del suelo principalmente son bacterias y hongos, los cuales impulsan el proceso mediante la mineralización, solubilización e inmovilización, para que estas fuentes orgánicas de fósforo sean utilizadas deben hidrolizarse por enzimas fosfatasas que secretan estos microorganismos (Rodríguez et al., 2018).

Se ha demostrado que cepas de bacterias pertenecientes al género *Burkholderia* son más eficientes en la solubilización de fosfatos minerales en comparación a otros géneros, debido a la secreción al medio extracelular de ácidos orgánicos como mecanismos de solubilización (Moreno-Conn et al. 2021), de allí que después de aislar y caracterizar 15 cepas provenientes de suelos agrícolas de la Mixteca Oaxaqueña, se determinó realizar el desarrollo de biofertilizantes con dicha bacteria.

#### **Metodología utilizada**

Se realizó el aislamiento, identificación (biología molecular y pruebas bioquímicas) y reproducción de 12 cepas de bacterias solubilizadoras de P extraídas de un suelo de la Mixteca de Oaxaca, a partir de las cuales se seleccionó la bacteria *Burkholderia caledonica* para desarrollar el biofertilizante.

### *Caracterización molecular de las bacterias*

Para hacer la caracterización se prepararon los medios de cultivos y se esterilizaron los materiales de laboratorio para hacer el aislamiento de las cepas microbianas con la capacidad de solubilizar P. Se utilizaron los medios de crecimiento en fosfatos National Botanical Research Institute's (NBRIP) y Medio líquido conteniendo  $\text{Ca}^3(\text{PO}_4)^2$ ,  $\text{AlPO}_4$  y  $\text{FePO}_4$ . Se incubaron las cajas por cuatuplicado a una temperatura de 28°C durante 7 días, hasta la aparición de halos claros alrededor de las UFC solubilizadoras de fosfatos. Se aislaron las colonias que producen zonas claras en el medio (NBRIP) solido con agar. Cada colonia se pasó a nuevas placas con el mismo medio para incubar por 7 días a una temperatura de 30°C. Para identificar las bacterias solubilizadoras de Fósforo se extrajo el ADN genómico de los cultivos celulares y se realizó la amplificación del ADN ribosomal 16S (16S ADN) usando dos iniciadores. Por último, se secuenciaron los fragmentos genómicos amplificados y se analizaron las secuencias obtenidas comparándolas en Genbank.

### *Pruebas bioquímicas*

Se realizó una identificación morfológica macroscópica y microscópica de las colonias de bacterias cultivadas en agar, que fueron recolectadas de la zona de estudio y sembradas en agar para su identificación en laboratorio y se determinó si las bacterias eran grampositivas o gramnegativas.

### *Crecimiento y conteo bacteriano*

Se realizaron diluciones seriadas  $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-8}$  a partir de un matraz con 100ml de caldo nutritivo que se dejó en la incubadora con movimiento a una temperatura de 28 °C y a 95 revoluciones por minuto (rpm) por 48 horas inoculado con 1 ml de la cepa *Burkholderia caledonica*.

Para el conteo de UFC se trazó una cuadrícula en la tapa de una caja petri (0.5 cm x 0.5 cm).

Se midió la absorbancia en el espectrofotómetro para conocer a las cuantas horas de inocular el medio las bacterias llegaban a su pico máximo de crecimiento. Se

tomó 1 ml de la dilución seriada del tubo número 6 ( $1 \times 10^{-6}$ ) y del tubo número 8 ( $1 \times 10^{-8}$ ), se agrega a la celda de cuarzo para medir en el espectrofotómetro configurado para medir la absorbancia a 650 nanómetros y calibrado con caldo nutritivo sin inocular (blanco) para calibrar a 0. Se hacen las mediciones para saber pasadas las 24, 48 o 72 horas cuál es el punto máximo de crecimiento de la bacteria. Para hacer el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) se siembra 500  $\mu$ l (0.5 ml) en cajas de medio nutritivo sólido y se distribuye con perlas de ebullición estériles, se realiza el mismo paso para cada dilución dejándolas por un lapso de 24, 48 y 72 horas en la incubadora a 28 °C.

Para obtener la cantidad de UFC/ml se necesitó el número de colonias contadas en cada caja, el factor de dilución y la cantidad en ml de la muestra sembrada en cada caja, con estos datos se utilizó la fórmula para saber los UFC/ml, se divide el número de colonias contadas por caja, se multiplica por el factor de dilución y se divide entre los ml sembrados en cada caja.

$$\text{UFC/ml} = \frac{\text{No. de colonias por caja} \times \text{el factor de dilución}^*}{\text{ml de la muestra sembrada}}$$

\* Factor de dilución: inversa de la dilución

$$*FD = \frac{1}{10^{-1}} = 10^1$$

**Figura 1.** Fórmula para el cálculo de UFC/ml.

Se realizó 3 veces la siembra de cajas con la dilución  $1 \times 10^{-6}$ . Se inocularon 3 cajas de medio nutritivo con 0.5 ml y se utilizaron perlas de ebullición para distribuir.

Se realizaron diluciones de un nuevo matraz inoculado con la cepa *Burkholderia caledonica*. Se inoculó cada caja con 0.5ml. En la dilución  $1 \times 10^{-5}$  se sembró 1 caja que se distribuyó con perlas de ebullición y 1 caja con triangulo de vidrio, en la dilución  $1 \times 10^{-6}$  y  $1 \times 10^{-7}$  Se sembraron 2 cajas que se distribuyeron con triangulo de vidrio y 1 caja con perlas de ebullición.

## Objetivos alcanzados

De acuerdo con el objetivo que se estableció en el informe, se logró reproducir, realizar una caracterización molecular y bioquímica y utilizar la cepa *Burkholderia caledonica* aislada de suelos de la Mixteca Alta de Oaxaca para la elaboración de un biofertilizante.

## Discusión y Resultados

### *Dinámica de crecimiento*

Se obtuvieron diferentes concentraciones de colonias acorde a la dilución utilizada (Tabla 1).

**Tabla 1.** Conteo de UFC.

Conteo de UFC		
Dilución	Caja	UFC
$1 \times 10^{-6}$	1	226
$1 \times 10^{-6}$	2	220
$1 \times 10^{-6}$	3	308

A partir de los conteos anteriores se construyó una curva de absorbancia, para de poder controlar la cantidad que se le agrega cuando se elabora el biofertilizante así como la sobrevivencia de la bacteria (tabla 2).

**Tabla 2.** Medición de absorbancia del espectrofotómetro.

Dilución	Absorbancia	K*Absorbancia
$1 \times 10^{-1}$	0.199	0.1991
$1 \times 10^{-2}$	0.021	0.0209
$1 \times 10^{-3}$	0.004	0.0040
$1 \times 10^{-4}$	0.002	0.0023



Se midió la absorbancia de todas las diluciones seriadas en el espectrofotómetro con una longitud de onda de 650 nanómetros, solo se sembraron cajas de la dilución  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  y  $1 \times 10^{-7}$ .

**Tabla 3.** Conteo de UFC y Absorbancia del espectrofotómetro.

Dilución	Absorbancia	K*Absorbancia	UFC de Caja 1 (Perlas)	UFC de Caja 2 (Triangulo)	UFC de Caja 3 (Triangulo)
$1 \times 10^{-5}$	0.002	0.0017	Invadida	Invadida	Invadida
$1 \times 10^{-6}$	0.002	0.0023	236	390	320
$1 \times 10^{-7}$	0.002	0.0023	117	154	157

### Caracterización molecular

Los análisis de las secuenciaciones tanto “forward” como “reverse” permitieron identificar con un 99% de probabilidad que la cepa bacteriana es *Burkholderia caledonica*, las diferentes bibliotecas del gen bank (Fig 1 y 2).

#### Análisis forward

GGAACGTGTCCTGTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATACCG  
 CATACTCTGCGGAGGAAAGCGGGGGATCCTTCGGGACCTCGCGCTACAG  
 GGGCGGCCGATGGCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGC  
 GACGATCTGTAGCTGGTCTGAGARGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACA  
 CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCG  
 CAAGSCTGATCCAGCAATGCCSGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA  
 GCACTTTTGTCCGGAAGAAAACCTCGTGGTTAATACCCGTGGGGGATGACG  
 GTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC  
 GTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCG  
 GWTCGCTAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATTTG  
 TGACTGGCGGGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCA  
 GTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTG  
 GGCCAATACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT  
 ACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTCGSGKTCTTCWTT  
 GACTTGGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGGAGTACGGTC  
 GCAAGATWAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCCGCAC

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download | Select columns | Show 100

select all 100 sequences selected

GenBank | Graphics | Distance tree of results | MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Paraburkholderia caledonica strain HMF5328 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Paraburkholderi...</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1479	<a href="#">MN595030.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-383-BIF-B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1371	<a href="#">MK373664.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-382-BIB-B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1406	<a href="#">MK373663.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-382-BIB-A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1404	<a href="#">MK373662.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-379-BIB-B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1408	<a href="#">MK373656.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-376-BIB-B 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1365	<a href="#">MK373655.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Burkholderia sp. strain RL17-374-BIB-C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Burkholderia sp.</a>	1454	1454	100%	0.0	98.65%	1402	<a href="#">MK373654.1</a>

ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=134536

NCBI Taxonomy Browser

Search for:  as:  complete name  lock Go Clear

Display: 3 levels using filter: none

Lineage (full): [cellular organisms](#); [Bacteria](#); [Proteobacteria](#); [Betaproteobacteria](#); [Burkholderiales](#); [Burkholderiaceae](#); [Paraburkholderia](#)

- [Paraburkholderia caledonica](#) Click on organism name to get more information.
  - [Paraburkholderia caledonica NBRC 102488](#)

Disclaimer: The NCBI taxonomy database is not an authoritative source for nomenclature or classification - please consult the relevant scientific literature for the most reliable information.

Reference: How to cite this resource - Schoch CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020; [buaa062](#). PubMed: [32761142](#) PMC: [PMC7408187](#).

Comments and questions to [info@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:info@ncbi.nlm.nih.gov)

[Help] [Search] [NLM NIH] [Disclaimer]

Fig. 1 Caracterización molecular de *Burkholderia caledonica* “forward”

Análisis “reverse”

KGATCCCRCCGTGGTAAGCGCCCTCCTTGSGGTAGTCCCCTACATASTGGTG  
 AAACCCRYTCCSATGGKGTGACGGGCGGKGTGTACAAGACCCGGAACGTAT  
 TCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCWGCTTCWCGCACT  
 CGAGTTGMAGAGTGCGATCCGGACTASGAKCGWTTTCTGGGATTGGCTCC  
 CCCTCGSGGGKTGGCGASCCTCTGTYSACCATTGTATGACGTGTGAARSCC  
 TACCATAAGGCCATGAGGACTTGACGTMATCCCCACCTTCCTCCGKTTGTC  
 RCGGMRKCTCCTGGAGGGTCWTGMGAAYACTARGACAGGGTTGKCTCKTWG  
 RGGATTACCCAMATCTCCSAMCGAGTGACACMCCATGARACCGTGTATGGYT  
 CCTTYGGRACCCMCTTTWRYWGGGTCCTAMTG YMAAGWAGKAAGTTTTTS  
 GGKSATSAATATYAAATATCMMMGYTGGGGGKYCCSGCAAYCYTTRATTTAW  
 YTG SAMGAYTCCAGGGGKMACTTCSGTWRYWCGTACMAKYAAKARACAAA  
 CYATKAAAYGTWAGGKGGRCWMCAGGWACWAWCYGTGCTCCMMCTTCTGY  
 TAAKCRKATGCCGGGGWGCTCCMTMGTTCCCMTYWMSTTTATGYACSGAT  
 TACCCTCGCWAYTRCSSMRCMAAGATCAGGAACCGGATTMWTTGTTWKAM  
 CCCGSCMATCYCMTATCATASTAYCCTTTTGGCGTKMGWATRRCGGTWCTCS  
 GCCGYTCCGGTARSGGTCTYSGAATGTGAWCAAGYTTACGSWGGAGTGCA  
 TGYATCCYGCCCGTAGGSTCTCATGGKTTTACKAGCTTAYACAYAYSSGKGRM

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#sort\_mark

Query Length: 875

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Uncultured Burkholderiaceae bacterium clone US1.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured Burkhold...	438	438	35%	6e-118	89.78%	1497	MT002718.1
Paraburkholderia sp. strain WSM4704.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Paraburkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1514	MN894059.1
Paraburkholderia caledonica strain HMF5328.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Paraburkholderia cal...	438	438	35%	6e-118	89.78%	1479	MN95050.1
Burkholderia sp. strain WSM4679.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1507	MF949050.1
Burkholderia sp. strain WSM4678.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1508	MF949049.1
Burkholderia sp. strain WSM4677.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1499	MF949048.1
Burkholderia sp. strain WSM4676.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1501	MF949047.1
Burkholderia sp. strain WSM4675.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1509	MF949046.1
Burkholderia sp. strain WSM4674.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	1503	MF949045.1
Burkholderia sp. strain Bk.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Burkholderia sp.	438	438	35%	6e-118	89.78%	556	KY924007.1

Download GenBank Graphics

Paraburkholderia caledonica strain HMF5328.16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MN95050.1](#) Length: 1479 Number of Matches: 1

Range 1: 1143 to 1454

Score	Expect	Identifiers	Gaps	Strand
438 bits(237)	6e-118	281/313(90%)	6/313(1%)	Plus/Plus

Query 566 GAC-AAMCGGAGGAGGTGGGATACCTCAAGTCTCTATGG-CCTTATGGGTAGGSYTT 623

Sbjct 1143 GACAAACCGAGGAGGTGGGATACCTCAAGTCTCTATGGCCTTATGGGTAGGCCTT 1202

Query 624 CACACCTCATACAATGGT-SGRACAGAGSSTGCCAMCCSCGAGGGGGGCAATCCCA 682

Sbjct 1203 CACACCTCATACAATGGTGGGAAAGGGTCCCAACCCGAGGGGGGCAATCCCA 1262

Query 683 GAAAWCCGHTCSFAGTCCGGATCCACTCTCCAACCTCGAGTCGGGAAGCGGAATCGCT 742

Sbjct 1263 GAAAWCCGHTCSFAGTCCGGATCCACTCTCCAACCTCGAGTCGGGAAGCGGAATCGCT 1322

Query 743 AGTAAATCCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGGCTTTTACACACCCCGCC 802

Sbjct 1323 AGTAAATCCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGGCTTTTACACACCCCGCC 1382

Query 803 TCACMCATSGARVGGGTTTCCACASTATATGGG-GACT-ACCSAAGAGGGCCCTT 860

Sbjct 1383 TCACACATGGAGTGGTTTCCACAGAA-GTAGGTAGCTAACCCGAGGAGGGCCCTT 1441

Query 861 ACCACGGYGGAT 873

Sbjct 1442 ACCACGGTGGAT 1454

Download GenBank Graphics

Burkholderia sp. strain WSM4679.16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MF949050.1](#) Length: 1507 Number of Matches: 1

Range 1: 1145 to 1456

Score	Expect	Identifiers	Gaps	Strand
438 bits(237)	6e-118	281/313(90%)	6/313(1%)	Plus/Plus

Query 566 GAC-AAMCGGAGGAGGTGGGATACCTCAAGTCTCTATGG-CCTTATGGGTAGGSYTT 623

Sbjct 1145 GACAAACCGAGGAGGTGGGATACCTCAAGTCTCTATGGCCTTATGGGTAGGCCTT 1204

Query 624 CACACCTCATACAATGGT-SGRACAGAGSSTGCCAMCCSCGAGGGGGGCAATCCCA 682

Sbjct 1205 CACACCTCATACAATGGTGGGAAAGGGTCCCAACCCGAGGGGGGCAATCCCA 1264

Query 683 GAAAWCCGHTCSFAGTCCGGATCCACTCTCCAACCTCGAGTCGGGAAGCGGAATCGCT 742

Sbjct 1265 GAAAWCCGHTCSFAGTCCGGATCCACTCTCCAACCTCGAGTCGGGAAGCGGAATCGCT 1324

Query 743 AGTAAATCCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGGCTTTTACACACCCCGCC 802

Sbjct 1325 AGTAAATCCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGGCTTTTACACACCCCGCC 1384

Query 803 TCACMCATSGARVGGGTTTCCACASTATATGGG-GACT-ACCSAAGAGGGCCCTT 860

Sbjct 1385 TCACACATGGAGTGGTTTCCACAGAA-GTAGGTAGCTAACCCGAGGAGGGCCCTT 1443

NCBI Taxonomy Browser

Search for:  lock Go Clear

Display 3 levels using filter: none

Nucleotide  Protein  Structure  Genome  Popsort  SNP  Conserved Domains  GEO Datasets  PubMed Central  
 Gene  Homologs  SRA Experiments  LinkOut  BLAST  GEO Profiles  Images  Identical Protein Groups  SPARCLE  
 Bioproject  BioSample  Assembly  dbVar  Genetic Testing Registry  Host  Viral Host  PubChem BioAssay

Lineage (fully): cellular organisms; Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Burkholderiaceae; Paraburkholderia

- Paraburkholderia caledonica [Click on organism name to get more information.](#)
  - Paraburkholderia caledonica NBRC 102488

**Disclaimer:** The NCBI taxonomy database is not an authoritative source for nomenclature or classification - please consult the relevant scientific literature for the most reliable information.

**Reference:** How to cite this resource - Schoch CL, et al. *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford)*. 2020; [baaa062](#). PubMed: [32761142](#) PMC: [PMC7408187](#).

Comments and questions to [info@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:info@ncbi.nlm.nih.gov)

**Caracterización bioquímica de la cepa *Burkholderia caledonica***

Se utilizó la cepa *Burkholderia caledonica* por ser una cepa muy activa en crecimiento y en solubilizar el medio selectivo de P, se pudo observar sus características como el color de las colonias que son amarillas con un tamaño de entre 1 y 2 milímetros y la forma de las colonias son redondas, vistas en microscopio

con tinción de gram se observó que son bacilos cortos con inclusiones, gramnegativas y de agrupamiento individual, de elevación convexa transparencia opaca, de borde regular (tablas 4 y 5), de la cual se hizo una preservación de biomasa de ADN en microtubos sin líquido y en microtubos con glicerol al 20% ambos almacenados en un ultracongelador a -78 C°.

**Tabla 4.** Caracterización morfológica *Burkholderia caledonica* (clave 4-5 (4)).

Clave	Elevación	Transparencia	Borde	Incrustación	Halo	Biomasa Criopreservada	Biomasa ADN
4-5 (4)	convexa	Opaca	regular	No	no medible.	si	si
Clave	Forma celular	Agrupamiento	Gram	Forma colonia	Tamaño	Color	
4-5 (4)	bacilo corto inclusiones	Individual	neg	redonda	entre 1 y 2 mm	amarillo	

**Tabla 5.** Pruebas bioquímicas *Burkholderia caledonica* (clave 4-5 (4)).

Clave	Amilasa	Lipasa	Adnasa	Esculina	Gelatinasa	Ox. glucosa	
4-5(4)	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	
Clave	Ferm. glucosa	Resp. NO3	Salinidad 0%	Salinidad 10%	Resp. SO4	Oxidasa	Perox. de H (catalasa)
4-5(4)	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo

*Preparación de biofertilizante:*

Se inculó un matraz con 100 ml de caldo nutritivo con 1 ml de la cepa *Burkholderia caledonica* y se dejó en una incubadora con movimiento por 48 horas a 95 rpm y una temperatura de 28 C°.

Para preparar 2 litros de biofertilizante se agregó a un recipiente de vidrio de 2.5 litros de capacidad 800 ml de caldo nutritivo, 1000 ml de caldo de carne y 200 ml de

jugo de piña. Antes de agregar la cepa (*Burkholderia caledonica*) al preparado se agitó el recipiente para que se mezclara todo de manera uniforme.

Posteriormente se realizaron diluciones seriadas con 1 ml de muestra del matraz inoculado y se colocaron en 9 ml de solución fisiológica dentro de tubos de ensayo hasta tener la dilución  $1 \times 10^{-6}$ .

Finalmente se inoculó con 4 ml de la dilución  $1 \times 10^{-6}$  de la cepa (*Burkholderia caledonica*) en el recipiente donde se agregó todo el preparado y se agitó el envase, se dejó a temperatura ambiente en un lugar con sombra sin luz directa del sol y pasadas 48 horas de inocular el preparado se guardó el biofertilizante en un refrigerador para ralentizar el crecimiento de la cepa. Se realizó el cálculo de UFC/ml del biofertilizante con los datos del factor de dilución ( $1 \times 10^{-6}$ ) las UFC contadas en cajas (283) (tabla 6) y la cantidad de mililitros con la que se inocularon las cajas sembradas (0.5 ml) dando como resultado que el biofertilizante preparado tiene una cantidad de  $5.6 \times 10^8$  UFC/ml de la cepa *Burkholderia caledonica*.

**Tabla 6.** UFC de del biofertilizante.

UFC de la dilución $1 \times 10^{-6}$						Total:	Promedio:
226	220	236	320	390	308	1700	283

Posteriormente se envió el biofertilizante a Oaxaca para que los productores lo utilizaran en la milpa, el tiempo del servicio social no alcanzó para medir el efecto en las plantas, sin embargo, después de dos meses, que el productor tenía el biofertilizante en su casa, se volvió a medir la viabilidad del mismo y presentó mayor UFC por mililitro que cuando fue enviado, lo que es un indicador de la supervivencia de las bacterias.

## Conclusión

Este trabajo ha logrado identificar a nivel bioquímico y molecular una cepa de interés, *Burkholderia caledonica*, que se ha empleado en la formulación de un biofertilizante. La caracterización detallada de esta cepa proporciona una base sólida para comprender su papel en la mejora de la salud del suelo y el rendimiento

de los cultivos. Este avance contribuye al conocimiento de la biodiversidad microbiana y destaca el potencial de aplicaciones prácticas en la agricultura sostenible a través de la implementación de biofertilizantes.

Esto ofrece la ventaja de disminuir los costos de insumos externos para los agricultores y mejorar las condiciones microbiológicas del suelo mediante inoculaciones periódicas de estos microorganismos.

### **Recomendaciones**

- Promover e informar a los productores sobre las ventajas del uso de microorganismos como bacterias solubilizadoras como biofertilizantes.
- Llevar a cabo investigaciones, realizar pruebas bioquímicas y evaluar cepas que demuestren ser efectivas para lograr rendimientos óptimos en los cultivos y una interacción exitosa entre la planta y los microorganismos.
- Comprender los requisitos alimenticios y las condiciones ambientales necesarias para los microorganismos presentes en los biofertilizantes sean más eficaces.

### **Literatura citada**

1. Bizzozero, F., (2006). Biofertilizantes [en línea]. CEUTA - Centro Uruguayo de Tecnologías Apropriadas. [Consultado: 18 de Agosto de 2023]. Disponible en: [http://www.ciaorganico.net/documypublic/822\\_Biofertilizantes-cultivos\\_sanos.pdf](http://www.ciaorganico.net/documypublic/822_Biofertilizantes-cultivos_sanos.pdf)
2. Armenta-Bojórquez, Adolfo Dagoberto., García-Gutiérrez, Cipriano., Camacho-Báez, J. Ricardo., Apodaca-Sánchez, Miguel Ángel., Gerardo-Montoya, Leobardo., & Nava-Pérez, Eusebio, (2010), "BIOFERTILIZANTES EN EL DESARROLLO AGRÍCOLA DE MÉXICO." Ra Ximhai, Vol., núm.1, pp.51-56 [Consultado: 15 de septiembre de 2023]. ISSN: 1665-0441. Disponible en : <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46112896007>
3. María Luisa Santillán, (2016), Así Funcionan Los Biofertilizantes. Ciencia UNAM. [Consultado: 7 de Septiembre de 2023]. Disponible en: [http://ciencia.unam.mx/leer/570/Asi\\_funcionan\\_los\\_biofertilizantes](http://ciencia.unam.mx/leer/570/Asi_funcionan_los_biofertilizantes)

4. Obid, Safa & Idris, Atif & Ahmed, Badr. (2016). Effect of Bio-Fertilizer on Growth and Yield of Two Maize (*Zea mays L.*) Cultivars at Shambat, Sudan. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*. [Consultado: 9 de Septiembre de 2023]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/307869182\\_Effect\\_of\\_Bio-Fertilizer\\_on\\_Growth\\_and\\_Yield\\_of\\_Two\\_Maize\\_Zea\\_mays\\_L\\_Cultivars\\_at\\_Shambat\\_Sudan](https://www.researchgate.net/publication/307869182_Effect_of_Bio-Fertilizer_on_Growth_and_Yield_of_Two_Maize_Zea_mays_L_Cultivars_at_Shambat_Sudan)
5. Moreno-Conn, L. M., López-Casallas, M., & Cruz Barrera, F. M. (2021). Solubilización de fosfatos por bacterias del género *Burkholderia* aisladas de oxisoles de la altillanura colombiana. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2), e1897. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num2\\_art:1897](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1897)
6. Abanto-Rodríguez, Carlos, Gerson Manuel Soregui Mori, Mario Herman Pinedo Panduro, Ena Vilma Velazco Castro, Elvis Javier Paredes Dávila, and Eduardo Medeiros de Oliveira. Uso de biofertilizantes en el Desarrollo Vegetativo e Productivo de Plantas de Camu Camu En Ucayali, Perú. *Revista Ceres* 66 (2): 108–16, 2019. [Consultado: 18 de Septiembre de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0034-737x201966020005>
7. Bacterias benéficas, crecimiento vegetal, PGPR [en línea]. (2021). INECOL Instituto de Ecología, A.C. [Consultado el 18 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2017-06-26-16-35-48/17-ciencia-hoy/1360-las-bacterias-que-ayudan-a-las-plantas-a-crecer#:~:text=Las%20bacterias%20promotoras%20del%20crecimiento,producción%20de%20fitohormas%20y%20antibióticos>
8. Beltrán Pineda, M. E., (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria* [en línea]. 15(001), 101–113. [Consultado el 24 de Septiembre de 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>