



Centro Educativo Cruz Azul A.C.

Incorporado a la UNAM Sí Clave: 6914

Acuerdo 86/98 del 02 de Junio 1998

Campus Lagunas, Oaxaca

FERTILIZANTE ECOLÓGICO G-DM: UNA ALTERNATIVA PARA TU CULTIVO

Clave del proyecto: CIN2018A10080

Nombre de los autores:

Guzmán Onofre Guiedani

Santiago Sotero Dayana Gathsemaní

Santos Jiménez Manuel

Nombre del asesor:

Job Ríos Toledo

Área de participación: Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud

Disciplina: Medio ambiente

Tipo de investigación: Experimental

Ciclo escolar: 2017-20178

Nivel: Bachillerato

Lagunas, Oaxaca, febrero del 2018

Contenido

Resumen.....	1
Planteamiento del problema.....	3
Justificación.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis.....	3
Marco teórico.....	13
Metodología.....	14
Resultados	14
Discusión.....	15
Conclusiones.....	15
Fuentes de consulta.....	15

RESUMEN EJECUTIVO

Para crear este producto tomamos en cuenta los peligros y complicaciones que tienen el fósforo y el nitrógeno en las plantas y medio ambiente. Estos componentes son utilizados para la gran mayoría de los fertilizantes. Después de analizar y llevar a cabo una laboriosa investigación, llegamos a una pregunta ¿cómo podemos reducir los niveles de contaminación que genera un fertilizante químico? Para esto realizamos otra investigación, en la cual, encontramos una bacteria llamada Azotobacter y su función es fijar el nitrógeno que se encuentra en el ambiente a la planta sin generar daño alguno.

La preparación química de los fertilizantes es una tarea enorme. Se tienen que combinar diferentes sustancias con diferentes materiales y al ser aplicadas a la planta las emisiones de nitrógeno y fósforo en exceso dañan en fitoplancton, el cual es uno de los principales aportadores de oxígeno a la Tierra.

En cambio, un biofertilizante es aquel que contiene un microorganismo que es capaz de interactuar con la semilla para ayudarla en su crecimiento.

Así, después de eso, nos pusimos como meta realizar un biofertilizante a partir de esta bacteria, ya que cumple con nuestros objetivos y planteamiento del problema. La elaboración del biofertilizante comienza con el objetivo de aislar la bacteria y juntarla con un material que permita aplicarlo en las plantaciones.

Para esto comenzamos con el proceso de aislar la bacteria y crear el medio en el que esta pueda vivir para que posteriormente pueda usarse en el biofertilizante.

Como resultados preliminares hemos obtenido las muestras de tierra de diferentes lugares donde se puede encontrar el Azotobacter y hemos construido su habitat. Esperamos que la bacteria se haga presente en los diferentes medios de cultivo hechos para posteriormente agregarla al contenido del biofertilizante.

Al momento los resultados son los que esperábamos, ya que hemos seguido las instrucciones puestas. Nuestro objetivo se está cumpliendo al igual que la hipótesis, al igual, hemos respondido nuestra pregunta del planteamiento del problema.

Podemos concluir en que este biofertilizante será una gran ayuda para los cultivos, así como para las plantaciones, debido a que reduce el impacto del nitrógeno, así como como reducir la cantidad de elementos químicos empleados al realizar un fertilizante químico.

Resumen

Los Biofertilizante son insumos formulados con uno o varios microorganismos, los cuales, de una forma u otra, proveen o mejoran la disponibilidad de nutrientes cuando se aplican a los cultivos.

Este proyecto se realizó con la finalidad de mostrar una alternativa a los fertilizantes convencionales, ya que podemos aprovechar el nitrógeno concentrado en la corteza terrestre sin producir tanta contaminación a diferencia de los fertilizantes químicos convencionales. Se llevo a cabo una metodología experimental pues se realizaron distintos procedimientos para la elaboración del Biofertilizante. Durante el desarrollo de este proyecto nos pudimos dar cuenta que el suelo más factible para bacteria son los suelos con plantaciones es decir fértiles y ricos en nutrientes para las plantas. Aun no damos por concluido este proyecto pues se seguirán realizando pruebas para verificar el desempeño y funcionalidad del Biofertilizante.

Palabras clave: Biofertilizante, Azotobacter, nitrógeno.

Abstract

Biofertilizers are inputs formulated with one or several microorganisms, which, in one way or another, provide or improve the availability of nutrients when applied to crops.

This project was carried out with the purpose of showing an alternative to conventional fertilizers, since we can take advantage of concentrated nitrogen in the earth's crust without producing so much pollution, unlike conventional chemical fertilizers. An experimental methodology was carried out since different procedures were carried out for the preparation of the Biofertilizer. During the development of this project we could realize that the most feasible soil for bacteria are soils with plantations that is fertile and rich in nutrients for plants. We still do not consider this project finished because tests will continue to verify the performance and functionality of the Biofertilizer.

Planteamiento del problema:

Actualmente los fertilizantes producen Los residuos de las plantaciones llegan a los océanos y tienen un efecto negativo en el fitoplancton, que es responsable por la producción de gran parte del oxígeno.

¿Cómo podemos reducir los niveles de contaminación que genera un fertilizante químico?

Justificación:

La elaboración de ese proyecto se llevará a cabo debido a que cada año los seres humanos convierten millones de toneladas de nitrógeno de la atmosfera en formas reactivas para la producción de fertilizantes, los cuales tienen un efecto negativo. (ExpokNews, 2012). Por lo cual se desea revertir esto con la creación de un fertilizante biodegradable como una nueva alternativa cuyo impacto sea menos negativo

Objetivo General:

Crear una alternativa sustentable para evitar los efectos negativos que el nitrógeno y el fósforo en exceso tienen en plantas y el medio ambiente

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto negativo que conllevan en exceso estas sustancias en el medio ambiente.
- Experimentar con distintas sustancias que no generen residuos contaminantes.

Hipótesis:

La creación de un fertilizante orgánico biodegradable compuesto de bacterias le proporcionará a la planta nutrientes necesarios para su crecimiento adecuado. Además, contribuirá al cuidado del medio ambiente sin producir contaminantes.

Marco teórico:

Los ciclos de fosforo y nitrógeno en las plantas son necesarias para su crecimiento saludable, pero los excesos de ellas son contraproducentes para el medio ambiente, pues afectan a los animales, el suelo, los mantos acuíferos y hasta las mismas plantas.

Antecedentes:

El fósforo y el nitrógeno son dos de los 17 nutrientes esenciales para el crecimiento saludable de las plantas. Las plantas contienen varios tipos distintos de nitrógeno, según la especie, la madurez y el entorno que las rodea. Sin el fósforo y el nitrato adecuado, el crecimiento de la planta se retarda (Gruposacsa, 2015).

El nitrógeno, es un gas en condiciones normales. El nitrógeno molecular es el principal constituyente de la atmósfera. En estado combinado, el nitrógeno se presenta en diversas formas. Es constituyente de todas las proteínas (vegetales y animales), así como también de muchos materiales orgánicos. Su principal fuente mineral es el nitrato de sodio (Lenntech, 2009)

El fósforo forma la base de gran número de compuestos, de los cuales los más importantes son los fosfatos. En todas las formas de vida, los fosfatos desempeñan un papel esencial en los procesos de transferencia de energía, como el metabolismo, la fotosíntesis, la función nerviosa y la acción muscular (Clickmica).

El suelo es una capa delgada que se ha formado muy lentamente a través de los siglos, con la desintegración de las rocas superficiales por la acción del agua, los cambios de temperatura y el viento. Las plantas y los animales que crecen y mueren dentro y sobre el suelo son descompuestos por los microorganismos, transformados en materia orgánica y mezclados con el suelo (FAO)

Los fertilizantes son sustancias que contienen elementos o compuestos químicos nutritivos para los vegetales de forma que puedan ser absorbidos por las plantas (CONICET).

Las plantas son seres vivos que producen su propio alimento mediante el proceso de la fotosíntesis. Ellas captan la energía de la luz del sol a través de la clorofila y convierten en dióxido de carbono y el agua de en azúcares que utilizan como fuente de energía (Universidad veracruzana)

Sin embargo, demasiado fósforo o una abundancia de nitratos tienen un efecto negativo en plantas y animales.

Agricultura y medio ambiente

La producción agropecuaria tiene unos profundos efectos en el medio ambiente en conjunto. Son la principal fuente de contaminación del agua por nitratos, fosfatos y plaguicidas. Son la mayor fuente antropogénica de los gases responsables del efecto invernadero, metano y óxido nitroso que contribuyen en gran medida a la contaminación del aire y agua (FAO, 2015).

Los fertilizantes, el estiércol y los plaguicidas son las principales causas de contaminación del agua. La contaminación de aguas subterráneas es uno de los problemas más importantes en casi todos los países desarrollados y en países en vías de desarrollo. La contaminación se produce cuando estos se utilizan en mayor cantidad de la que pueden absorber los cultivos o cuando se elimina por acción del agua o del viento de la superficie del suelo antes de que sean absorbidos. Los excesos de fósforo y nitrógeno pueden infiltrarse en las aguas subterráneas o ser arrastrados a cursos del agua. Esto provoca la eutrofización de lagos, embalses y estanques lo que da lugar a una explosión de algas que suprimen otras plantas y animales acuáticos (FAO, 2015).

Los plaguicidas también reducen la biodiversidad ya que destruyen hierbas e insectos y con ellos las especies que sirven de alimentos a pájaros y otros animales. A medida que el número y las necesidades han aumentado los seres humanos han utilizado una proporción cada vez mayor de la superficie y de los recursos del planeta para cubrir sus propias necesidades. A medida que disminuye la superficie lo mismo ocurre con las especies que viven en ella. La pérdida de biodiversidad no solo se limita a la fase de preparación de la tierra en el desarrollo agrícola, continua mucho después. Algunas de las formas de vida afectadas pueden ser importantes recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de cultivo y predadores de insectos dañinos (FAO, 2015).

El uso y abuso del nitrógeno por parte de la raza humana ha dado como resultado una tecnología muy beneficiosa para nuestra especie: cada año, los humanos convertimos aproximadamente 120 millones de toneladas de nitrógeno de la atmósfera en formas

reactivas como los nitratos para la producción de fertilizantes o aditivos alimenticios. Los residuos de las plantaciones llegan a los océanos y tienen un efecto negativo en el fitoplancton, que es responsable por la producción de gran parte del oxígeno. (ExpokNews, 2012)

Nitratos en el suelo

El nitrato existe naturalmente en el suelo. Necesario para el crecimiento de las plantas, cerca del 90 por ciento del nitrógeno absorbido por éstas está en forma de nitrato, según los cálculos de estudios realizados por la Universidad de Missouri. Los nitratos se agregan al suelo de tres formas: a través de fertilizantes, de la descomposición de materia orgánica y de estiércol animal (Gruposacsa, 2015)

Nitratos en plantas

Las plantas usan nitratos en combinación con ácidos orgánicos para la producción de proteínas. Las plantas jóvenes generalmente contienen más nitratos que las maduras. Una deficiencia de estos puede provocar un desequilibrio en la ingesta de nutrientes y un crecimiento anormal o raquítrico de la planta (Gruposacsa, 2015)

La contaminación de las aguas subterráneas por los productos y residuos agroquímicos es uno de los problemas más importante en casi todos los países desarrollados y, cada vez más, en muchos países en desarrollo (FAO, 2015).

La contaminación por fertilizantes se produce cuando éstos se utilizan en mayor cantidad de la que pueden absorber los cultivos, o cuando se eliminan por acción del agua o del viento de la superficie del suelo antes de que puedan ser absorbidos. Los excesos de nitrógeno y fosfatos pueden infiltrarse en las aguas subterráneas o ser arrastrados a cursos de agua. Esta sobrecarga de nutrientes provoca la eutrofización de lagos, embalses y estanques y da lugar a una explosión de algas que suprimen otras plantas y animales acuáticos (FAO, 2015)

Peligro de los nitratos

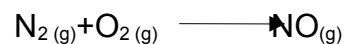
Demasiados nitratos en cultivos para forraje podrían resultar en niveles tóxicos afectando al ganado, a los caballos y a la vida salvaje. La adición de un fertilizante con fosfato en realidad reduce el contenido de nitrato en estos cultivos (Gruposacsa, 2015).

Peligros de los fosfatos

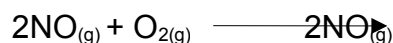
Los fosfatos en el suelo se encuentran dentro de las partículas de este. Cuando los lagos y los ríos experimentan niveles excesivos de fosfatos de la escorrentía de pastos y cultivos, las algas sufren ritmos de crecimiento excesivos. Los altos niveles de algas llevan a una disminución de los niveles de oxígeno, amenazando a los peces y a otra vida salvaje (Gruposacsa, 2015)

Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno es un componente esencial de muchas sustancias. La cantidad de nitrógeno en la tierra es fija por lo tanto debe reciclarse. Existen dos vías principales para la fijación de nitrógeno en la naturaleza. En la atmosfera, los relámpagos combinan N_2 y O_2 formando NO.



Una vez formado el NO, se oxida a NO_2 .



En la atmosfera, la lluvia convierte el NO_2 a HNO_3 , el cual cae posteriormente a la tierra como $NO_3^-(ac)$.



La fijación del nitrógeno se logra a través de bacterias que viven con el suelo y en las raíces de ciertas leguminosas como guisantes, habichuelas, maní y alfalfa. En este proceso primero se reduce el N_2 a NH_3 y NH_4^+ , y luego se oxida a NO_3^- .

Las plantas absorben los iones de nitrato a través de sus raíces y lo utilizan para sintetizar compuestos de nitrógeno que no son utilizados por organismos de los animales se excretan como desechos. Los microorganismos del suelo convierten este desecho en N_2 y el nitrógeno se recicla volviendo al ambiente (Curtis, 1993).

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS.

Composición del suelo: es la capa más superficial de la corteza terrestre, está compuesto de fragmentos de roca asociados con material orgánico. Típicamente tiene tres capas.

- Horizonte A (capa superior del suelo): es la zona máxima de materia orgánica.
- Horizonte B (subsuelo): formado por partículas inorgánicas combinadas con nutrientes inorgánicos que se han lixiviado (lavado) del "A".
- Horizonte C: constituido por rocas sueltas que se extienden hasta el lecho rocoso, que se encuentra por debajo de ellas.

La profundidad, la composición del suelo y la fertilidad varían considerablemente en ambientes diferentes. El contenido mineral depende en parte de la roca madre a partir de la que se formó el suelo. Difieren en el contenido de minerales.

En un ambiente no perturbado la mayoría de los ambientes minerales permanecen dentro del sistema: el suelo mismo, las plantas, microorganismos y pequeña fauna del suelo que esta contiene y mantiene. Si la capa se erosiona pierde los nutrientes.

Otro factor que influye es el tamaño de partículas del suelo. El agua y los minerales se drenan a partir del suelo compuesto por partículas grandes.

El suelo compuesto por partículas pequeñas que retiene el agua, además, las pequeñas partículas están cargadas negativamente y por tanto se unen a iones cargados positivamente. Sin embargo, un suelo de arcilla pura está adaptado pobremente al crecimiento de las plantas dado que habitualmente es tan compacto que no permiten que, entre suficiente oxígeno para la respiración de raíces de las plantas, de los animales del suelo y la mayoría de los microorganismos del suelo. Los suelos arcillosos que contiene las partículas de arena y limo suficientemente grandes como

para evitar la compactación se conocen como “Luam” y en general estos son los mejores suelos para el crecimiento de las plantas.

El pH también es un factor importante, en el suelo ácido, los iones de hidrógeno remplazan a otros iones cargados positivamente adhiriéndose a las partículas de arcilla. Estos se lavan del suelo, también afecta la solubilidad de ciertos elementos nutrientes (Curtis, 1993).

REQUERIMIENTOS MINERALES DE LAS PLANTAS.

Las plantas requieren de minerales para muchas funciones diferentes, una es la regulación de balance del agua. El potencial osmótico es determinado por el número de partículas de solutos en solución de, más que por su identidad química específica, varios tipos de iones pueden intercambiarse en el desempeño de esta función, los iones que participan en el balance del agua son inespecíficos. Hay requerimientos altamente específicos. Un elemento específico puede ser un componente esencial de una molécula biológica fundamental, la cual no funcionará adecuadamente en su ausencia: algunos minerales son constituyentes esenciales de las membranas celulares y algunos controlan la permeabilidad de la membrana (el requerimiento es altamente específico).

Otros son componentes indispensables de una variedad de sistemas enzimáticos que catalizan reacciones químicas en las células. Hay otros que suministran un ambiente iónico adecuado en la que pueden desarrollarse estas reacciones.

Dado que los elementos minerales intervienen de muchos procesos fundamentales, los efectos de las deficiencias minerales típicamente son de amplio espectro, afectando numerosas estructuras y funciones del cuerpo de las plantas.

Según la concentración de un elemento mineral comúnmente encontrada en los tejidos, se suelen clasificar a los nutrientes de origen mineral en dos categorías: macronutrientes y micronutrientes. Un **macronutriente** puede constituir típicamente entre en 0.3 y 6% del peso seco de una planta. Por el contrario, solo habrá unas pocas partes por millón de un **micronutriente**. Las necesidades de nutrientes esenciales suelen identificarse estudiando la capacidad de las plantas de crecer en una solución

de agua destilada y de todos los iones considerados esenciales excepto a otros lotes se les suministran distintas concentraciones crecientes del elemento estudiado. La comparación entre distintos lotes de plantas permite determinar si es nutriente de verdad, esencial (Curtis, 1993).

Absorción de minerales

Las células vegetales requieren de varios elementos químicos diferentes que se encuentran en el suelo en forma de minerales. Los iones minerales son absorbidos en solución acuosa por las raíces y viajan a través de la xilema en la corriente de transpiración. Las células de la endodermis desempeñan un papel principal en determinar que las sustancias entran a la xilema.

Pareciese evidentemente que los iones minerales son inducidos en las células de las plantas por transporte activo (Curtis, 1993).

HORMONAS Y LA REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL.

Las hormonas integran el crecimiento, desarrollo y actividades metabólicas de los distintos tejidos de la planta.

Se conocen cinco tipos principales de hormonas principales: auxinas, citocinas, etileno, ácido abscísico y giberelinas. Las cadenas de carbohidratos cortas, conocidos como los oligosacáridos, también funcionan como hormonas vegetales (Curtis, 1993).

FERTILIZANTES QUIMICOS

El crecimiento de la planta requiere nutrientes químicos. Las plantas en crecimiento necesitan 16 nutrientes químicos, 9 de los cuales se requieren grandes cantidades y los otros 7 en cantidades en trazas. El carbono, el hidrogeno y el oxígeno que necesitan las plantas proceden del aire y el agua. El resto de los nutrientes se absorben del suelo. Los principales nutrientes del suelo son nitrógeno, fosforo y potasio, que son los nutrientes de suelos que se requieren en grandes cantidades; los de tipo secundario de tipo secundario son calcio, magnesio y azufre. Los fertilizantes químicos suministran los

nutrientes primarios en las formas adecuadas y algunos proveen también los nutrientes secundarios (Dingrado *et al*, 2003).

LA ELABORACIÓN DE FERTILIZANTES QUÍMICOS

La preparación química de los fertilizantes es una tarea enorme. El nitrógeno elemental para el proceso de **Haber** se obtiene del aire. El hidrógeno elemental se obtiene del carbón, el petróleo o el gas natural. El nitrógeno y el hidrógeno se utilizan para elaborar amoníaco mediante el método de Haber y este se puede inyectar directamente al suelo como fertilizante. Sin embargo, en general se utiliza para producir fertilizantes sólidos que se puedan transportar y utilizar con mayor facilidad. El ácido nítrico se elabora a partir del amoníaco se hace reaccionar con el bióxido de carbono para obtener urea. La combinación de amoníaco con ácido sulfúrico produce sulfato de amonio, que es un fertilizante sólido común (Dingrado *et al*, 2003).

BIOFERTILIZANTES

Se denomina biofertilizante a un producto que contiene uno o varios microorganismos del suelo y puede ser aplicado a la semilla o al suelo con fin de incrementar su número, asociarse directa o indirectamente al sistema radical de las plantas favorecer su interacción e incrementar el desarrollo vegetal y reproductivo de la planta o huésped (Medina *et al*, 2009)

BACTERIAS FIJADORAS DE NITROGENO

Las bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollan de forma natural en el suelo se conocen desde hace más de un siglo representan un biofertilizante ecológico y se dividen en dos grandes grupos las simbióticas y las libres, que viven en el suelo y no necesitan la planta para su reproducción, como el *azotobacter* y *azospirillum* (Bosques mediterráneos).

El **Azotobacter** es una bacteria cuya principal característica consiste en la fijación de nitrógeno presente en la atmósfera, de manera que quede accesible para la planta, lo que significa un aporte natural de nitrógeno (Asociación vida sana).

El azotobacter y el azospirillum, en concentraciones adecuadas pueden sustituir al nitrógeno químico sin merma de la producción y a menor costo. Otras ventajas comprobadas el uso de esas bacterias como biofertilizante son

- Producen fitohormonas, como el ácido Indolacético y las citoquininas, capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas.
- Al permanecer vivos durante muchos años y reproducirse en el suelo, no sólo se degradan, sino que también contribuye a su enriquecimiento y a su regeneración de forma ecológica y gradual, incluso en terrenos de alta concentración salina.
- Crea una barrera protectora contra hongos y bacterias patógenas en la raíz de la planta, por lo que esta crece más sana y fortalecida.
- Se ha comprobado un mayor índice de germinación de semillas comparada con otros sistemas de abonado.
- Las nuevas estirpes son capaces de fijar un 72.64% más de nitrógeno atmosférico que las estirpes originales.
- Se ha demostrado que resisten mejor a las condiciones de sequía y los climas áridos ya que se forman alginatos en las raíces de las plantas.
- Como consecuencia de todo lo anterior, es un mayor desarrollo de las raíces de las plantas, con el consiguiente beneficio general para esta, así como el peso de los frutos (Bacterias fijadoras de nitrógeno)

Estas bacterias fueron descritas por primera vez en 1901 por Beijerinck. La morfología celular de Azotobacter es constantemente variable ya que cambia según las condiciones ambientales existentes, es decir, es una bacteria pleomórfica. A su vez, se ha determinado que una de las formas de sobrevivencia de esta bacteria en condiciones desfavorables, es a través de la formación de quistes, que le confieren resistencia. Las células bacterianas de Azotobacter pueden tener una forma bacilar con bordes romos hasta elipsoidales o cocoides, a su vez, pueden formar ciertos arreglos celulares como cadenas o pares, estas formas dependen del medio o la edad del cultivo. Son Gram negativas y pueden medir de 1.6 – 2.7 μm de diámetro por 3.0 - 7.0 μm de longitud (Kennedy, 2005).

Son bacterias aerobias de vida libre, pero pueden crecer a bajas concentraciones de oxígeno. Fijan nitrógeno hasta en condiciones microaerobias (2% oxígeno). La

fijación de nitrógeno depende de la presencia de Molibdeno, Vanadio o enzimas nitrogenasas que contengan Fe. Algunas especies son móviles. Otras pueden producir también pigmentos solubles o insolubles en agua. Pueden utilizar alcoholes, azúcares o sales de ácidos orgánicos como fuentes de carbono. Crecen en un pH mínimo de 4,8 – 6,0 y a un máximo de 8,5, con un pH ideal de 7,0-7,5. La mayoría de los aislamientos de Azotobacter provienen del suelo, pero existen también algunas especies aisladas de ambientes acuáticos. Las colonias de Azotobacter son viscosas, convexas, lisas o arrugadas y poseen pequeñas inclusiones granulares, y el color depende del medio de cultivo, pueden llegar a medir de 2 – 6 mm de diámetro en 5 días a una temperatura de 28 a 30° C

Metodología

Obtención de muestras del suelo: se recolectaron las muestras en distintos cultivos de maíz provenientes de Santo Domingo Ingenio, Ixtepec y El Llano. Se realizó un muestreo en forma de zigzag en cada uno, posteriormente se pesaron para obtener 500g. Las muestras resultantes se depositaron en bolsas de papel que, a su vez, se colocaron dentro de bolsas herméticas para ser transportadas en coolers hacia el laboratorio.

Procesamiento de muestras: Una vez en el laboratorio, las muestras se tamizaron con un tamiz estándar para la obtención de gránulos uniformes, se etiquetaron las muestras para el aislamiento primario

El suelo tamizado se utilizó para medir el pH, éste se colocó en un frasco limpio junto con agua destilada en proporción 1:1 p/v. La suspensión se dejó precipitar. Durante 5 minutos y se tomó el pH con el potenciómetro. Se esterilizaron los materiales para la realización del medio de cultivo agar-ashby, de igual manera, se realizaron las tomas de pH correspondientes a los mismos y se dejaron gelificar.

Aislamiento primario: A partir de las diferentes muestras de suelo obtenidas, se realizó el aislamiento primario por triplicado, empleando la técnica de gránulos del suelo; se colocan 20 gránulos en cajas de agar Ashby. La sacarosa es el medio específico para el azotobacter, se colocó a una distancia aproximada a 1 cm.

Resultados

El suelo tamizado al ser recolectado presentaba raíces de las plantaciones, así como rocas, los gránulos, a simple vista podían confundirse con piedras. Después de haber transportado las muestras y haberlas tamizado, logramos apreciar con mayor detalle los gránulos que se encontraban presentes en cada muestra del suelo. El suelo tamizado quedo con residuos como las raíces y las piedras. Para tomar el pH primero se optó por utilizar cintas medidoras de pH las cuales nos dieron resultados de 5 a 7. Con el potenciómetro logramos ver resultados de 7.1 a 7.5.

Cuando se estaban realizando los medios de cultivo, se logró observar que el agar-ashby 1 comenzaba a gelificarse. Pasados unos apreciamos el medio de cultivo, algunas cajas de Petri tenían agar gelificado mientras que otras se encontraban aun en el proceso de gelificación. Se procedió a sembrar los gránulos del suelo.

Discusión

El azotobacter es una bacteria fijadora del nitrógeno, la cual se puede encontrar en casi cualquier cultivo que presente un pH superior a 6.0, Aunque puede sobrevivir aun encontrándose en cultivos con un pH de 4.8. A través del experimento se espera identificar dicha bacteria para poder trabajar en la creación de un fertilizante ecoamigable, que contribuya al cuidado del medio ambiente evitando el dejar residuos dañinos, tal como lo hacen los fertilizantes químicos. Lo que se puede rescatar del procedimiento realizado hasta ahora es que, desde la obtención de las muestras hasta la siembra, se han seguido los pasos adecuadamente. Está previsto realizar el medio de cultivo agar-ashby nuevamente para obtener mejores resultados en cuanto a la consistencia de la mezcla. Puede ser que en alguna parte del procedimiento realizado hayan quedado pequeños cabos sueltos, los cuales no permitieron el desarrollo correcto del medio. Se espera de los gránulos sembrados observar colonias posteriormente a 7 días.

Conclusiones

Hasta ahora se puede decir que el objetivo principal se cumple puntualmente, puesto que a través de este experimento se desea crear la alternativa. Uno de los objetivos hace mención la determinación del efecto negativo que conlleva utilizar en exceso el

fósforo y nitrógeno. Ese punto ha quedado aclarado, se sabe que la agricultura es la actividad económica que más contamina, debido a las demandas que este requiere. Cabe destacar que la utilización de fertilizantes químicos en exceso es dañina para los cultivos también para los ciclos naturales del fósforo y nitrógeno. Todo el residuo que no logra ser utilizado termina desencadenando problemas en otros aspectos. La experimentación con distintas sustancias es otro aspecto que puede resaltarse en esta investigación. Es lo que se ha estado realizando. Aún no es posible comprobar la hipótesis planteada al principio de la investigación, pero se esperan resultados favorables a corto y largo plazo.

Bibliografía

- Asociación vida sana (Sin año) *Microorganismos del suelo y biofertilización*. Sitio web: http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=CROPS-FOR-BETTER-SOIL_formation-5.pdf
- Bacterias fijadoras de nitrógeno, sitio web: <http://www.bosquesmediterraneos.com/wp-content/documentos-pdf/bacterias-fijadoras-nitrogeno.pdf>
- Curtis, Helena (1993). Biología. Editorial: medica panamericana S.A, pág. 642, 643, 669, 670, 671, 676, 677, 687.
- Descubre fundación (Sin año) *Descubrimiento del fósforo*, obtenido de clickmica: [clickmicahttps://clickmica.fundaciondescubre.es/conoce/descubrimientos/descubrimiento-del-fosforo/](https://clickmica.fundaciondescubre.es/conoce/descubrimientos/descubrimiento-del-fosforo/)
- Dingrado, Laurel, Gregg, Hainen, Wistrem. (2003). Química, materia y cambio. Editorial: Mc Graw-Hill interamericana editores S.A. DE. CV. Pag. 860, 861.
- ExpokNews. (2012). Los 10 problemas ambientales más apremiantes. 15 agosto 2017, de Expoknews Sitio web: <https://www.expoknews.com/los-10-problemas-ambientales-mas-apremiantes/>
- FAO (2015). *Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Informe resumido....* 2 octubre 2017, Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s11.htm>
- FAO (sin año) *Tema 2: El suelo*. Sitio web. <http://www.fao.org/docrep/006/W1309S/w1309s04.htm>

- Gruposacsa (2015) *Importancia de los nitratos y los fosfatos*. Sitio web: <http://www.gruposacsa.com.mx/importancia-de-los-nitratos-y-fosfatos-en-las-plantas/>
- Kennedy, C., Rudnick, P., Mc Donald, M., & Melton, T. 1901. Genus III. *Azotobacter* Beijerinck., 567AL. En: Bergey. 2005. Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Brenner, J. Ed. Springer. New-York, USA. pp. 384 –402
- Medina, Garza, Duran, Grageda, Peña, Loredo, Gutiérrez (2009): *Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México* <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:tAsqznHN4nMJ:biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3046/3131%2520los%2520biofertilizantes%2520microbianos.pdf%3Fsequence%3D1+%&cd=4&hl=es-419&ct=clnk&gl=mx>
- Mendoza (Sin año) CONICET: *Fertilizantes*. Sitio web: <https://www.mendoza-conicet.gob.ar/portal/enciclopedia/terminos/Fertilizant.htm>
- SA. (2010) Importancia del fósforo en las plantas. Sitio web: <http://www.gruposacsa.com.mx/importancia-del-fosforo-por-las-plantas/>
- Sin autor. (2009). Nitrógeno. 23 septiembre 2017, de Lenntech Sitio web: <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/n.htm#ixzz4v4fSR99O>
- Universidad veracruzana (Sin año) *LAS PLANTAS*. Sitio web: http://reservaeleden.org/plantasloc/alumnos/manual/03a_las-plantas.html