

El Guano del Murciélago *Carollia perspicillata* como una fuente de bacterias del ciclo del nitrógeno y su uso como fertilizante

Bat Guano Carollia perspicillata is a source of Nitrogen Cycle Bacteria and its use as fertilizer

Danna Marcela Piraquive Bermudez ^a; Hugo Mauricio Jimenez Melo ^b

^a Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; dpiraquiveb@unal.edu.co

^b Universidad Pedagógica Nacional, Bogotá, Colombia; hmjimenez@pedagogica.edu.co

Correspondencia: dpiraquiveb@unal.edu.co

Recibido: Agosto 03, 2024. Aceptado: Diciembre, 06 2024.

Abstract

Bat guano is considered a source of nutrients and bacteria that can act as a potential biofertilizer, associating vigorous growth of plants around where these mammals live, which today would be an environmentally friendly alternative, by reducing contamination by agrochemicals, the increase in production costs and meeting the demand for food acquisition. In Colombia, studies of bacteria that interact in bat guano, their potential as biofertilizers, the fixation of macro and micronutrients that interact in the endosphere and rhizosphere in symbiosis with plants are limited and the ecosystem. The main objective of this research is to carry out a chemical and bacterial analysis of the nitrogen cycle of the Bat Guano *Carollia perspicillata*, analyzing its effectiveness with *Phaseolus vulgaris* (bean) cultures. The study place was La Palma-Cundinamarca, study population (*Carollia perspicillata* bat), a simple random sampling of the Guano was carried out in the rainy season and dry season and then an isolation of bacteria from the Nitrogen cycle was carried out in selective culture media (MCN) and a chemical analysis of Nitrogen, Phosphorus and Potassium (NPK), identifying the bacteria *Nitrobacter* sp, *Azotobacter* sp and *Nitrosomonas* sp in the rainy season and *Nitrosococcus* sp in the dry season. Small-scale bioassays were carried out to analyze the biofertilizer potential of Guano with *Phaseolus vulgaris* (bean) crops, observing plant growth for a month, taking data every 7 days. The growth of *Phaseolus vulgaris* (bean) with the application of Guano showed double growth. Guano from *Carollia perspicillata* could be a good comprehensive fertilizer since it contains bacteria related to the Nitrogen Cycle and a high NPK

Keywords: Chemical analysis; bacteria; biofertilizers; bioassay; NPK; *Phaseolus vulgaris*; *Phyllostomidae*.

Resumen

El guano de murciélago es considerado como una fuente de nutrientes y bacterias que puede actuar como potencial biofertilizante, asociando un crecimiento vigoroso de las plantas en torno a donde habitan estos mamíferos, lo que hoy en día sería una alternativa amigable con el ambiente, al disminuir la contaminación por agroquímicos, la elevación de costos productivos y cumplir con la demanda de adquisición de alimentos. En Colombia son limitados los estudios de bacterias que interaccionan en el guano de murciélago, su potencial como biofertilizantes, la fijación de macro y micronutrientes que interactúan en la endosfera y rizosfera en simbiosis con las plantas y consigo al ecosistema. El objetivo principal de esta investigación es realizar un análisis químico y bacteriano del ciclo del nitrógeno del Guano del Murciélago *Carollia perspicillata*, analizando su efectividad como biofertilizante en bioensayos con *Phaseolus vulgaris* (frijol). El lugar de estudio fue La Palma- Cundinamarca, población de estudio (*Murciélago Carollia perspicillata*), realizando un muestreo aleatorio simple del Guano en época lluviosa y época seca, después se realiza un aislamiento de bacterias del ciclo del Nitrógeno en medios de cultivos selectivos (MCN) y un análisis químico de Nitrógeno, Fósforo y Potasio (NPK), identificando en época lluviosa las bacterias *Nitrobacter* sp, *Azotobacter* sp y *Nitrosomonas* sp y en época seca *Nitrosococcus* sp. Se realizaron bioensayos a pequeña escala para analizar el potencial biofertilizante del Guano con cultivos de *Phaseolus vulgaris* (frijol) observando el crecimiento de la planta durante un mes tomando datos cada 7 días. El crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) con la aplicación del Guano presentó el doble de crecimiento. El Guano de *Carollia perspicillata* podría ser un buen fertilizante integral ya que contiene bacterias relacionadas con el Ciclo del Nitrógeno y un alto contenido de NPK.

Palabras clave: Análisis químico; bacterias; biofertilizantes; bioensayo; NPK; *Phaseolus vulgaris*; *Phyllostomidae*.

1. Introducción

Colombia es un país megadiverso debido a su ubicación en el trópico, presenta variabilidad de ecosistemas, fauna, flora, climas, suelo, entre otros [18], cuenta aproximadamente con 113,9 millones de hectáreas que conforman el territorio del país, de las cuales 53,6 están intervenidas por el hombre [17], 26,5 se pueden utilizar para la agricultura y las otras 33,9 son destinadas para los diferentes tipos de bosques naturales [30]. De estos 33,9 millones cerca de 3 millones han sido deforestadas desde el año 2001 hasta el año 2021 [16], generando preocupación al gobierno nacional que actualmente plantea el cuidado a los ecosistemas teniendo en cuenta diferentes proyectos que promuevan la vocación agrícola, reforestación y cuidado del agua del país [22].

A nivel nacional los proyectos de estrategias de reforestación y agricultura a partir de la diversidad microbiana y la simbiosis que puedan presentar con las plantas son limitados, en Colombia las metodologías a base de nutrientes químicos se implementan con frecuencia en abonos comunes que se aplican para el crecimiento y producción de las plantas, pero a su vez estos van limitando la producción agrícola a largo plazo y la restauración de los bosques [7], estos fertilizantes químicos utilizados de manera excesiva generan la emisión de gases efecto invernadero entre otros efectos. [27]

El estudio de nutrientes que promueven la vocación agrícola y la reforestación son principalmente el nitrógeno, fósforo y potasio (NPK), estos nutrientes se encuentran de manera natural en bajas concentraciones en los suelos del país; por lo tanto, se deben buscar otras fuentes para su obtención y así favorecer la absorción de NPK para las plantas, estimulando su desarrollo, crecimiento, y resistencia a fitopatógenos [10], evitando generar bajas producciones, altos costos, plantas con déficit de crecimiento y frutos de mala calidad [34]

Desde hace muchos años una de las estrategias empleadas por los agricultores para promover la producción agrícola el crecimiento y producción de las plantas es implementar el uso de abonos obtenidos de heces de diferentes animales, como es el caso del murciélago donde por medio de este artículo se expondrá las concentraciones de NPK que presenta el guano de *C. perspicillata*, [21] clasificado en la IUCN como no vulnerable [4], perteneciente al grupo de murciélagos frugívoros *Phyllostomidae* conocidos como (agricultores del bosque). Su Guano es un biofertilizante que estimula la maduración, floración y resistencia a plagas que puedan atacar la raíz de la planta [4] y el cual se puede verificar experimentalmente por medio de diferentes bioensayos como el de [29], donde plantas de lechugas

Lactuca sativa - Linnaeus, 1758, fueron controladas con Guano que se colocaba parcialmente y otras de control que presentaba suelo y agua en condiciones similares a las naturales, en este diseño experimental se puede determinar que el Guano actúa como único abono a la planta de lechuga favoreciendo su crecimiento y producción en comparación al control.

[21] Hace referencia de que estos estudios de microbiota y su interacción son limitados en países de Latinoamérica y que deben ser importantes en la agricultura y su implementación en los ecosistemas agrícolas [15] en bienestar de disminuir el uso excesivo de fertilizantes químicos y los efectos adversos que estos proveen [26]. Por esta razón, es importante realizar investigaciones en torno a la búsqueda de biofertilizantes que interaccionen con microorganismos funcionales del suelo [30], cómo se evidencia en este documento que a partir de estudios y análisis del guano de *C. perspicillata* contiene bacterias del ciclo del nitrógeno, que beneficia la tapa inicial del desarrollo de las plantas, favorece un crecimiento activo, formación de hojas y ramas, cuando se finaliza o detiene el crecimiento de la misma es donde se hace necesario el fósforo y el potasio (que también lo presenta el Guano) para activar el proceso de enraizamiento y formación de frutos [6]; en esta investigación se evidencia concentraciones altas de NPK en el guano de *C. perspicillata* las cuales estimulan el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) en los bioensayos realizados.

Teniendo en cuenta que este guano presenta sustancias bacterianas reguladoras o promotoras del crecimiento vegetal, que juegan un papel importante en el planteamiento de estrategias ante diferentes problemáticas a los que se exponen los cultivos del sector agrícola en el mundo, mejorando su producción, implementación de prácticas sostenibles, reducción de uso de agroquímicos y fertilizantes que pueden ser altos contaminantes, involucrando la salud humana y presentando los altos costos, en búsqueda de abastecer la demanda adquisitiva y calidad de alimentos del planeta tierra. [32]

Actualmente en el mundo como nueva estrategia ambiental surge la implementación de biofertilizantes con altos contenidos de bacterias PGPR por sus siglas (Plant Grown Promoting Rhizobacteria) y PGPB (Plant Grown Promoting Bacteria), los cuales presentan un papel importante en la agricultura y la economía actual, llegando a reemplazar los efectos negativos en las interacciones en diferentes procesos fisiológicos de las plantas, en los cuales el guano de murciélagos al presentar varios nutrientes y microorganismos (desde bacterias, virus, protozoos, helmintos y microhongos) es considerado como un biofertilizante rico en nutrientes. [32]

2. Materiales y métodos

2.1 Área de Estudio

Esta investigación se realizó en el municipio de la Palma, Cundinamarca - Colombia, vereda El Castillo, de coordenadas Latitud 5,3186184 N y Longitud de - 74,4298741 O, donde se evidenció una población aproximada de 500 murciélagos en un área de terreno de 60 m², donde en época lluviosa se dato una temperatura promedio de 20°C y una humedad relativa promedio del 84% y en época seca una temperatura promedio de 26°C con una humedad relativa promedio del 72%.

2.2 Muestreo del Guano

Se identificó la especie *C. perspicillata* por medio de trampas que fueron instaladas en puntos clave donde se desplazaban los murciélagos, se identificó al murciélago *C. perspicillata* por medio de la guía taxonómica de [12], clave de Identificación de los murciélagos de Sudamérica e identificación por fotografías y muestreo dental. Se realizó un muestreo aleatorio simple del guano del murciélago *C. perspicillata* en el lugar de estudio, en cada punto se colocaron plásticos con medidas de 2 m x 1 m que separaron el guano del suelo, posterior a esto el guano se tomó en recipientes coprológicos como muestras simples, se repitió este proceso en épocas diferentes: época seca y lluviosa.

2.3 Análisis microbiológico del Guano

En el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Biología de la Universidad Pedagógica Nacional, se realizó el aislamiento de bacterias nitrificantes por duplicado de ambos muestreos (época seca y época lluviosa) del Guano de *C. perspicillata*. Para ello se utilizó el Medio de Cultivo para bacterias Nitrificantes (MCN) con las siguientes concentraciones basado en el documento de (Pérez, s.f.) g/L: (NH₄)₂SO₄ 1.35 g, FeSO₄·7H₂O 0.0025 g, CuSO₄·5H₂O 1.2 10⁻⁴ g, Na₂HPO₄ 0.71 g, NaH₂PO₄·2H₂O 0.78 g, MgSO₄·7H₂O 0.052 g, CaCl₂·2H₂O 7.4 10⁻⁴ g. En la (dilución 10⁻¹), se colocó 1g de guano y 9 mL de agua destilada estéril en un tubo de ensayo con tapa rosca, de la (dilución 10⁻²) y (dilución 10⁻³) se sembraron 0.1 mL en 4 cajas Petri con el asa hockey y se incubó a 20 °C por 7 días.

2.4 Análisis químico de Guano y Suelo

Se realiza el análisis químico de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK) del Guano y del suelo del hábitat del murciélago y a 100 m, para Nitrógeno se emplea la metodología de Kjeldahl, para el análisis de fósforo se emplea la metodología de Bray II y del potasio por medio de la metodología Acetato-NH₄ 1M pH 7; EAA, en donde las variables analizadas fueron de 1 gramo de muestra de Guano. El muestreo del guano se

realizo de manera homogénea, donde se envió una única muestra por época (una para seca y una lluviosa).

La metodología para el análisis del nitrógeno se muestra a continuación: 1. Secado del guano, 2. Pasar guano por cinco tamices, 3. Se pesa 1 g de guano, 4. Se transfiere a un tubo de digestión, para guano con un alto contenido de materia orgánica (mayor del 10 por ciento), 5. Se pesa 0.5 g, 6. Se añade 2 g de mezcla de catalizadora a cada uno de los tubos de digestión, 7. Se añade 7 mL de ácido sulfúrico concentrado agitando vigorosamente, 8. Repetir el proceso con cada una de las muestras, 9. Colocar los tubos de digestión en el digestor. 10. Encender el digestor y digerir la muestra a 380°C, 11. Retirar las muestras y colocar a temperatura ambiente, 12. Añadir 50 mL de agua destilada y dejar reposar, 13. Limpiar el destilador con una muestra de agua libre de nitrógeno, 14. Añadir 10 mL de ácido bórico con el indicador en un frasco Erlenmeyer, 15. Colocar el Erlenmeyer en la salida del destilador, 16. Colocar el tubo de digestión en el condensador, añadir 20 mL de hidróxido sódico y empezar la destilación por el tiempo necesario se producirá entre 80-100 mL de destilado, si hay nitrógeno en la muestra del Erlenmeyer se producirá un viraje del marrón al verde, 17. Sacar tubo de digestión. 18. Tomar Erlenmeyer con la muestra y añadir ácido sulfúrico 0,1 normal.

La metodología para el análisis del fósforo se muestra a continuación: 1. Pesar 3,56g de la muestra, 2. Depositar 3.56g de la muestra en un frasco de agitado, 3. Agregar 20 mL de solución extractora, 4. Agitar la muestra manualmente durante 50 segundos, 5. Dejar la muestra en reposo 24 horas, 6. Filtrar la solución, 7. Agregar a un matraz aforado 10 mL de reactivo de colorimetría, 8. Tomar una alícuota de 10 mL y colocarlo en el matraz con el reactivo, 9. Aforar el matraz con 25 mL de agua destilada, 10. Esperar 45 minutos para obtener resultados, 11. Colocar el resultado de la muestra en el espectrofotómetro para calcular el valor aproximado de fósforo en la muestra.

La metodología para el análisis del potasio se muestra a continuación: 1. Ajustar el pH a 7 después de terminar la preparación de la solución (si es mayor de 7), añadir ácido acético, si el pH del resultado final de la solución es menor de 7, (añada hidróxido de amonio), 2. Pesar 10 g de suelo seco al aire y pasado por proceso de tamizaje de 0.5 mm, transferir a un pomo de plástico de 100 mL, 3. Añadir 50 mL de solución de acetato de amonio 1N pH=7. 4. Tapar el pomo y agitar en agitador mecánico durante 6 minutos. 5. Filtrar y traspasar a un pomo seco para evaluar la determinación de cationes que se encuentran en la muestra de suelo.

2.5 Bioensayos con *Phaseolus vulgaris* (frijol)

Se realiza la medición del crecimiento del frijol, el cual por medio de variables independientes se tomaron los datos de control que indicaron las medidas del diseño, se debe tener en cuenta que los materiales implementados fueron:

suelo sin abono o suelo 2000 g y 300 g de Guano, cuatro vasos desechables en cada época, algodón, frijoles, 700 ml de agua natural, flexómetro, termómetro, higrómetro y materas. Así se determinó la efectividad de guano y la absorción de nutrientes que favorecieron a las plantas en su crecimiento como lo menciona [4].

El diseño experimental consistió en colocar tres frijoles en cada uno de los cuatro vasos desechables que previamente deben tener algodón alrededor y 175 mL de agua, a partir de la germinación del frijol se sacan las plántulas con un tamaño de crecimiento promedio 0,9 cm – 1,1 cm el cual es medido por medio del flexómetro, se procede a transferir las 12 plántulas en dos materas que presentaran: suelo sin abono y suelo con guano (en proporción 70% y 30%) en época lluviosa y nuevamente se repite el procedimiento anterior con suelo, suelo con guano en época seca, se abren seis agujeros en el suelo de cada matera (aproximadamente 3 cm), colocando en cada agujero un frijol asegurando que quede una capa de suelo cubriéndolos, las materas con los frijoles sembrados se colocan en un lugar con presencia de luz solar, humedad relativa entre 78% a 84% y temperatura entre 8° y 21°, se agrega agua cada siete días por medio de un gotero, se mide las plántulas por medio de un flexómetro cada siete días, la medición se hace solamente del tallo (hipocotíleo y epicotíleo), se toman los datos cada siete días aproximadamente por un mes.

2.6 Análisis Estadístico

Por medio de la prueba estadística Tukey se analizan los datos, para comprobar si hay diferencias significativas en los tratamientos realizados aplicando el porcentaje de error del 0,005% y la ecuación correspondiente (ver ecuación 1):

$$T\alpha = q\alpha (K, N - K) \sqrt{\frac{CM\ ERROR}{n}} \quad (1)$$

Los anteriores parámetros se basan en $T\alpha$ =Valor crítico (porcentaje de error con el que se está aplicando la ecuación, en este caso es de 0,05), $q\alpha$ =Parámetro de comparación el cual se halla mediante los datos de $(K, N - K)$, donde K es el numero de tratamientos (en este caso del estudio son 2 (época seca y época lluviosa)) y $N-K$ = grados de libertad, (en esta investigación son 4 datos en el periodo del mes registrado), determinando de esta manera que también se obtiene 2 ya que $(2, 4-2)$ es igual a $(2,2)$, es decir, que el parámetro de comparación es de 2,2 y que como se puede observar en la siguiente tabla, teniendo en cuenta los anteriores valores hallados, el parámetro de comparación es de 6,10 (ver figura 10), para hallar el $\sqrt{\frac{CM\ ERROR}{n}}$ hay que tener en cuenta que en este caso el CM ERROR es el porcentaje de error con el que se esta aplicando la ecuacion es decir 0,05 y n (numero de replicas por tratamiento, los cuales en este caso son 4),

determinando que la ecuacion queda de la siguiente manera (ver ecuación 2):

v_2 i	α i	v_1									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.05	18.00	29.98	32.82	37.08	40.41	43.12	45.40	47.36	49.07	50.59
	0.01	90.03	135.0	164.3	185.6	202.2	215.8	227.2	237.0	245.6	253.2
2	0.05	6.10	8.33	9.80	10.88	11.74	12.44	13.03	13.54	13.99	14.39
	0.01	14.04	19.02	22.29	24.72	26.63	28.20	29.53	30.68	31.69	32.59
3	0.05	4.50	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46	9.72
	0.01	8.26	10.62	12.17	13.33	14.24	15.00	15.64	16.20	16.69	17.13

Figura 1. Valores críticos para la prueba de Tukey. Fuente: https://www.academia.edu/15397097/Tabla_VI_Valores_cr%C3%ADtic_os_para_la_prueba_de_Tukey

$$T_{0,05} = 6.10 \sqrt{\frac{0,05}{4}} = 0,68 \quad (2)$$

Teniendo en cuenta el resultado de la ecuación anterior, si en el análisis de los intervalos el resultado es $>$ de 0,68 la muestra es significativa de lo contrario si es $<$ de 0,68 la muestra no es significativa para la correspondiente investigación, es por esto que los datos medidos se van a nombrar con la letra (**Y**) seguido de un número (cuando se refiera a la muestra de control de la diferente época) y de una letra (cuando se refiera a la muestra con guano correspondiente de cada época), como se muestra en la tabla 6 y 7.

2.7 Análisis Bioquímico

Se implementa para Nitrógeno y Fosforo el análisis bioquímico según las siguientes pruebas

Nitrógeno

Se realiza mediante el medio Caldo Peptona con el indicador reactivo de Nessler el cual presenta una coloración amarilla (Ve figura 2).



Figura 2. Medio Peptona Fuente: Piraquive, D. 2019

Para la preparación del medio se deben tener 10g de peptona, 5g de NaCl, 1 litro de agua destilada y un pH de 7,0

generando una mezcla de todos los reactivos, si el pH es superior se debe ajustar con HCl, se inocula 100 μ L de guano (1g/1ml), incubando a 37° por 48 horas.

Se toma 1 ml del caldo agregando 30 μ L del reactivo de Nessler y si se torna una coloración amarilla o pardo es indicador de presencia de Amoniaco (lo que determina la presencia de bacterias que intervienen en la descomposición del nitrógeno)

Fosforo

Se realiza mediante el medio de Pikovskaya, el cual determina el crecimiento de bacterias solubilizadoras de fosfatos, la preparación se realiza mediante Agar Pikovskaya ya de fabrica o la debida preparación del mismo, por medio de diluciones seriadas hasta 10^{-5} y 10^{-6} se realiza la inoculación de 1 μ L, colocándolo de manera homogénea en el medio de Pikovskaya (Se realiza duplicado seriado de las dos diluciones), incubándolo a 37°C por 48 horas, si se observa crecimiento de Unidades formadoras de Colonia se determina que hay presencia de bacterias solubilizadoras de fosfatos. (Ver figura3).



Figura 3. Medio Pikovskaya. Fuente: Piraquive, D. 2019

Posterior a estas pruebas se sugiere realizar prueba molecular de 16S para la identificación de las bacterias que crecieron en estos dos medios (Caldo de Peptona y Pikovskaya)

Para la preparación del medio se deben tener 10g de peptona, 5g de NaCl, 1 litro de agua destilada y un pH de 7,0 generando una mezcla de todos los reactivos, si el pH es superior se debe ajustar con HCl, se inocula 100 μ L de guano (1g/1ml), incubando a 37° por 48 horas.

Se toma 1 ml del caldo agregando 30 μ L del reactivo de Nessler y si se torna una coloración amarilla o pardo es indicador de presencia de Amoniaco (lo que determina la presencia de bacterias que intervienen en la descomposición del nitrógeno)

3. Resultados y Discusión

3.1 Identificación del murciélago *C. perspicillata*

Se debe tener en cuenta que en este estudio hay una limitación en los tamaños de la muestra, por lo cual para tener una información mas precisa se debe ampliar la cantidad de muestras, es por esto que esta investigación hace la aclaración en cuanto a las muestras que se tomaron y las cuales fueron analizadas.



Figura 4. *C. perspicillata*. a) Hoja nasal rudimentaria b) verruga central y alrededor, c) murciélago *C. perspicillata*, d) pelaje tricolor, e) orden dentario, f) uropatagio. Fuente: Autores.

Teniendo en cuenta la guía taxonómica de [11], se identifica en el muestro la especie *C. perspicillata*, por las siguientes características; pelaje corto tricolor, dedos con escasos pelos o desnudos y uropatagio en forme de V, primer premolar superior apenas en contacto con el canino (característica única para la especie *C. perspicillata* y verruga central del mentón que representa únicamente el Género *Carollia*, presencia de hoja nasal rudimentaria por guía taxonómica de [12] y [20], como se puede observar en la (Figura 4).



Figura 5. Recolección del guano láminas de plástico. Fuente: Autores.

Para la recolección del guano se empleó la metodología de [2], donde indica que para el análisis del guano se deben

colocar láminas de plástico en el lugar donde descansan los murciélagos (Ver Figura 5).

3.2 Análisis microbiológico

En el análisis de las bacterias relacionadas con el ciclo del nitrógeno en el medio de cultivo (MCN) se determina que hay variedad de bacterias (ver Tabla 1) que se confirmaron por coloración de Gram y pruebas bioquímicas por medio de caldo de peptona, pikovskaya y prueba molecular 16S.

Tabla 1. Conteo de Bacterias época lluviosa y época seca

Conteo de bacterias	Promedio - n=4.	Conteo	Bacterias identificadas
Época lluviosa	3×10^5 UFC/g-guano		<i>Nitrobacter</i> sp <i>Azotobacter</i> sp <i>Nitrosomonas</i> sp
Época seca	1×10^4 UFC/g-guano		<i>Nitrosococcus</i> sp

Fuente de consulta: Autores.

3.3 Análisis químico

Tabla 2. Porcentajes de NPK en la Época lluviosa. Promedio (n = 4) ds desviación estándar.

Época lluviosa			
Muestra	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
Suelo a 100 m alrededor del área	0,60 ds 0,008	14,28 ds 0,42	0,06 ds 0,006
Suelo del Hábitat del murciélago	1,16 ds 0,026	27,63 ds 0,41	0,16 ds 0,013
Guano	3,22 ds 0,01	56,20 ds 0,82	0,57 ds 0,011

Fuente de consulta: Autores.

Tabla 3. Porcentajes de NPK en la Época seca. Promedio (n = 4) ds desviación estándar.

Época seca			
Muestra	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
Suelo a 100 m alrededor del área	0,53 ds 0,01	9,12 ds 0,2	0,55 ds 0,009
Suelo del Hábitat del murciélago	0,60 ds 0,01	13,45 ds 0,55	0,28 ds 0,01
Guano	1,49 ds 0,03	38,70 ds 0,50	0,31 ds 0,009

Fuente de consulta: Elaboración propia

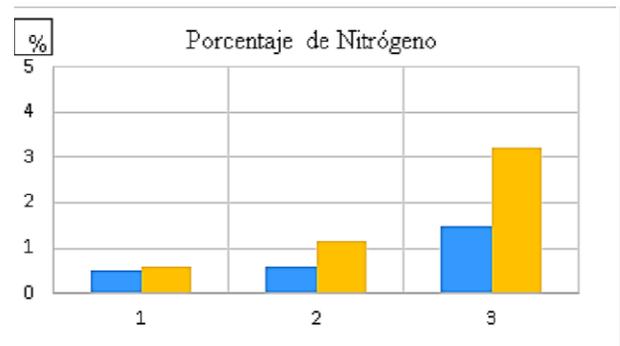


Figura 6. Porcentaje de Nitrógeno en Suelo alrededor área de estudio (1), Suelo del hábitat del Murciélago (2), Guano (3). Azul Época Lluviosa. Amarillo Época Seca. Fuente: Autores

El análisis químico de NPK (porcentaje /g) se realizó en el Laboratorio de Aguas y Suelos, Facultad de Ciencias Agrarias Sede Bogotá. Universidad Nacional de Colombia, en la Tabla 2 muestran los resultados.

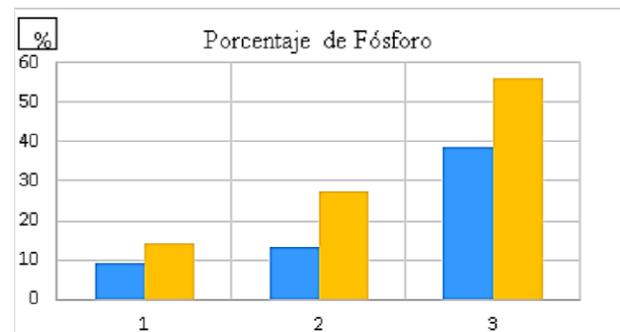


Figura 7. Porcentaje de Fosforo en Suelo alrededor área de estudio (1), Suelo del hábitat del Murciélago (2), Guano (3). Azul Época Lluviosa. Amarillo Época Seca. Fuente: Autores.

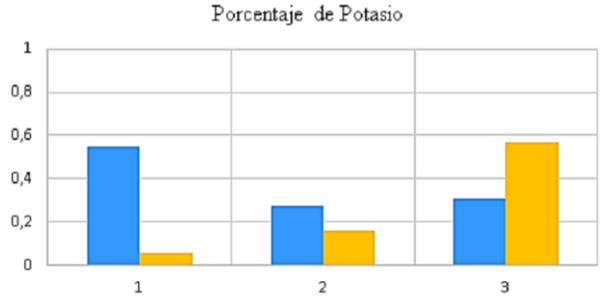


Figura 8. Porcentaje de Potasio en Suelo alrededor área de estudio (1), Suelo del hábitat del Murciélago (2), Guano (3). Azul Época Lluviosa. Amarillo Época Seca. Fuente: Autores.

3.4 Bioensayo

Los datos obtenidos se muestran a continuación:

Tabla 4. Tabla de control de *Phaseolus vulgaris* (Control época lluviosa; muestra de control, suelo con guano)

Control lluviosa	época	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo muestra de control)	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo con guano)
30 septiembre 2019		1,1 cm	1,1 cm
7 octubre 2019		4,0 cm	6,2 cm
14 octubre 2019		12,2 cm	17,7 cm
21 octubre 2019		16,2 cm	26,2 cm

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Tabla de control de *Phaseolus vulgaris* (Control época seca; muestra de control, suelo con guano)

Control época seca	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo muestra de control)	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo con guano)
8 mayo 2019	0,9 cm	0,9 cm
15 mayo 2019	3,7 cm	6,9 cm
22 mayo 2019	11,4 cm	18,3 cm
29 mayo 2019	16,1 cm	33,8 cm

Fuente de consulta: Elaboración propia



Figura 9. Gráfica de control de *Phaseolus vulgaris* en cm, en suelo (línea azul) y suelo con guano (línea naranja) época lluviosa. Fuente: Autores.

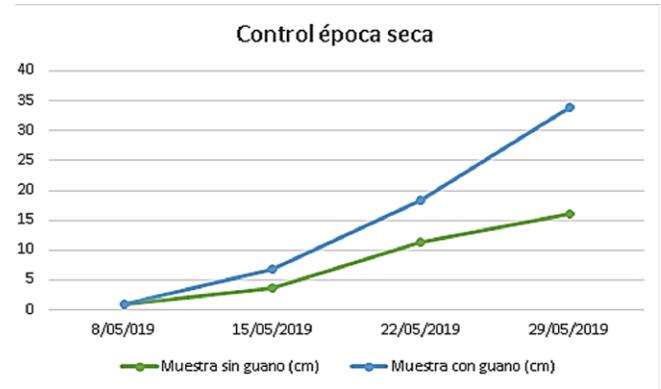


Figura 10. Gráfica de control de *Phaseolus vulgaris* en cm, en suelo (línea azul) y suelo con guano (línea naranja) época seca. Fuente: Autores.

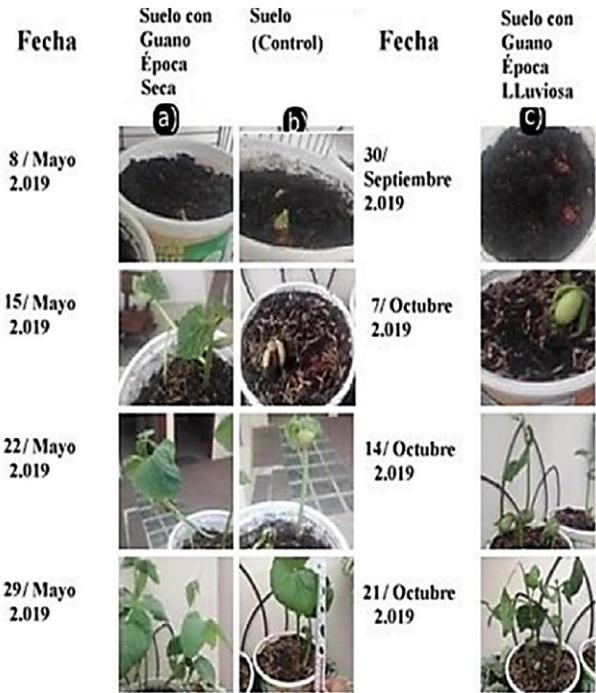


Figura 11. Tabla de control crecimiento de *Phaseolus vulgaris* en a) guano época seca, b) muestra de control y c) guano época lluviosa. Fuente: Autores.

Teniendo en cuenta que la aplicación de nitrógeno en el suelo se clasifica en acción rápida cuando es soluble en agua y acción lenta insolubles en agua, de manera más controlada al requerimiento de nitrógeno de la planta [28], es posible que las frutas de las cuales se alimentaron los murciélagos por cuestiones de época seca presentaban una acción lenta insolubles en presencia de poca agua generando la poca variabilidad de bacterias; los géneros encontrados; *Nitrobacter* sp, *Azotobacter* sp y *Nitrosomonas* sp y *Nitrosococcus* sp se relacionan con el Ciclo del Nitrógeno

Tabla 6. Implementación prueba de Tukey época seca

Control época seca	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo muestra de control)	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo con guano)
8 mayo 2019	Y1 0,9 cm	Ya 0,9 cm
15 mayo 2019	Y2 3,7 cm	Yb 6,9 cm
22 mayo 2019	Y3 11,4 cm	Yc 18,3 cm
29 mayo 2019	Y4 16,1 cm	Yd 33,8 cm

Fuente de consulta: Autores.

Tabla 7. Implementación prueba de Tukey época lluviosa

Control época lluviosa	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo muestra de control)	Crecimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cm (suelo con guano)
30septiembre 2019	Y5 1,1 cm	Ye 1,1 cm
7 octubre 2019	Y6 4,0 cm	Yf 6,2 cm
14 octubre 2019	Y7 12,2 cm	Yg 17,7 cm
21 octubre 2019	Y8 16,2 cm	Yh 26,2 cm

Fuente de consulta: Autores.

Por medio de los datos anteriores, se procede a comparar el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* en muestra de control y en la muestra de guano de época seca y lluviosa, obteniendo los siguientes resultados:

3.5 Interpretación de la significancia

Si |Diferencia de datos| > 0,68 puede ser significativa

Si |Diferencia de datos| ≤ 0,68 No puede ser significativa

Época seca

|Ya-Y1| 0,9-0,9=0 < 0,68= **No significativa**

|Yb-Y2| 6,9-3,7=3,2 > 0,68= **Significativa**

|Yc-Y3| 18,3-11,4=6,9 > 0,68= **Significativa**

|Yd-Y4| 33,8-16,1=17,7 > 0,68= **Significativa**

Época lluviosa

|Ye-Y5| 1,1-1,1=0 < 0,68= **No significativa**

|Yf-Y6| 6,2-4,0=2,2 > 0,68= **Significativa**

|Yg-Y7| 1,7-12,2=5,5 > 0,68= **Significativa**

|Yh-Y8| 26,2-16,2=10 > 0,68= **Significativa**

Determinando que en el 75% de las muestras son significativas, de esta manera se puede comprobar la eficiencia del guano en el crecimiento de *Phaseolus vulgaris*.

El análisis estadístico determina diferencias significativas en las concentraciones de NPK y sus interacciones en la planta en la época seca en la muestra Yd-Y4 que puede ser implícita a un cambio de nutrientes probablemente por cambio en la dieta alimenticia en disponibilidad de recursos, en el caso de época lluviosa la composición del guano puede estar afectada por la escorrentía y lixiviación

Las bacterias fijadoras biológicas de nitrógeno de vida libre o bacterias diazotróficas, bacterias nitrificantes, bacterias y microhongos solubilizadores de fosfatos y captadores de fósforo, promotores de crecimiento vegetal, entre otros, son muy importantes en el funcionamiento de los variados ecosistemas de suelo y cultivos agrícolas [31], como se puede verificar en el documento de [23] debido a su fertilidad biológica y las concentraciones de NPK con que puedan interactuar. Estas bacterias utilizan una alta energía para romper el triple enlace de la molécula de nitrógeno (N₂) y reducirla a amoníaco (NH₃) mediante la enzima nitrogenasa, mediante la siguiente reacción:



Entre los géneros de estas bacterias diazotróficas se encuentra *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Nitrosococcus*, *Paenibacillus*, *Micrococcus* y especies como *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Brevibacillus brevis*, entre otros, [8] y realizando los análisis bacterianos en esta investigación se evidencio la presencia de *Azotobacter* y *Nitrosococcus*.

Las cuales por medio de la nitrificación realizan el proceso de conversión del amoníaco (NH₃) en nitritos (NO₂) y en nitratos (NO₃), esto se realiza en dos etapas:

Primera etapa: El amoníaco (NH₃) se oxida a nitrito (NO₂):



Por las bacterias oxidantes de amonio de los géneros *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, entre otras. En este estudio se encontró *Nitrosomonas*.

Segunda etapa: los nitritos (NO_2) son oxidados a nitratos (NO_3):



Por las bacterias oxidantes de nitritos de los géneros *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, entre otras. Mediante la desnitrificación los nitratos pueden convertirse de nuevo a nitrógeno libre (N_2) por bacterias desnitrificantes. En este estudio se encontró *Nitrobacter*.

La comparación del Bioensayo con *Phaseolus vulgaris* de Guano obtenido en época lluviosa y época seca, se evidenció mayores nutrientes que permitieron su óptimo crecimiento y desarrollo; duplicando su crecimiento normal, en ambos bioensayos se evidencio mayor crecimiento que el control, resaltando una mayor eficiencia del Guano obtenido en época lluviosa.

La mayoría de los suelos colombianos no proveen de los nutrientes necesarios a las plantas para ser lo suficientemente fértiles [1], los nutrientes presentes en el suelo se determinan como recursos no renovables afectando la productividad y el crecimiento cuando están limitados [32], es por esto que la utilización de NPK se determina como abono complejo por presentar tres nutrientes importantes Nitrógeno, Fósforo disponible como P_2O_5 y Potasio K_2O [13], los cuales permiten la modificación directa de los nutrientes del suelo y la interacción entre el mismo, como se evidencia en el bioensayo realizado con el frijol, pues en el Guano también hay un contenido de NPK.

Lo anterior se relaciona con la literatura; el Nitrógeno es considerado como un elemento fundamental en la conformación del material genético e interacción ambiental de todos los seres vivos [9], susceptible a reducirse por volatilización, lixiviación y escorrentía [14], es fundamental para el proceso de elaboración de proteínas, fitohormonas, clorofila, ácidos nucleicos y metabolitos [25], es considerado también como el gas más abundante presente en el 78% de la atmosfera como N_2 , aunque su porcentaje se encuentra en altas concentraciones, muy pocos organismos vivos pueden tomarlo de manera directa como fuente metabólica, como es el caso excepcional de las plantas que por medio de una simbiosis con bacterias fijadoras del suelo les permite dicha absorción, estas bacterias fijadoras del nitrógeno simbiotes son *Rhizobium* sp (bacteria encontrada en raíces de leguminosas), [5].

El Carbono (C) orgánico disponible afecta la dinámica del Nitrógeno de tres maneras: (1) La disponibilidad de C estimula la mineralización heterotrófica de los compuestos de N orgánico generando NH_4^+ , el cual es inmovilizado en la biomasa bacteriana heterotrófica. (2) Cuando el C orgánico disponible disminuye, las bacterias heterótrofas inmovilizan menos NH_4^+ , por lo que esta forma de N mineral queda disponible para la nitrificación por las poblaciones de bacterias quimiolitotróficas, que son más eficientes en la

oxidación del NH_4^+ cuando la disponibilidad del C orgánico limita la actividad y el crecimiento de las poblaciones heterótrofas. Como resultado, tanto la nitrificación y las poblaciones bacterianas nitrificantes aumentan cuando existe una baja concentración y calidad de C orgánico disponible [19]. Como consecuencia de una acumulación de NO_3^- , los microorganismos desnitrificadores usan las formas lábiles de C orgánico como fuente de energía para la liberación de N_2O . Este modelo ha sido sustentado para otros ecosistemas. Lo que sugiere que la nitrificación puede estar explicada por un proceso de competencia bacteriana por C y N disponibles en el suelo, [19].

Por medio de la prueba de Tukey se puede determinar una posible significancia en los datos, pero como se menciona anteriormente se hace énfasis en realizar un muestro mas amplio para verificar esta hipótesis.

4. Conclusiones

Se identificó *Carollia perspicillata* teniendo en cuenta las claves taxonómicas y sus características morfológicas como pelaje corto tricolor, dedos con escasos pelos o desnudos y uropatagio en forme de V, primer premolar (característica única para la especie *C. perspicillata*), verruga central del mentón que representa únicamente el Género *Carollia* y por presencia de hoja nasal rudimentaria (Característica única para familia *Phyllostomidae*).

A partir del Medio de Cultivo Selectivo (MCN) se aislaron e identificaron mediante pruebas bioquímicas las bacterias relacionadas con el Ciclo del Nitrógeno: *Nitrobacter* sp (Oxidante de Nitritos), *Azotobacter* sp (Fijadora Biológica de Nitrógeno de Vida Libre), *Nitrosomonas* sp y *Nitrosococcus* sp (Bacterias Oxidantes de Amonio), del guano de *C. perspicillata*, las cuales para su confirmación se requiere del análisis molecular ADN ribosomal 16S.

Se debe tener en cuenta tener mas muestras de las épocas para definir la confiabilidad de los resultados, en la estadística e interpretación se puede determinar que las diferencias significativas se presentan en relación a la composición del guano y los nutrientes allí presentes los cuales pueden intervenir factores muy posiblemente como lixiviación para época lluviosa y eutroficación para época seca.

El análisis químico de nitrógeno (porcentaje) del Guano en época lluviosa fue mayor que en época seca, lo que se relaciona con un mayor número de bacterias del Ciclo del Nitrógeno aisladas.

El porcentaje de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK) del Guano de *Carollia perspicillata* es superior al porcentaje encontrado en el suelo alrededor del área de estudio y del suelo de su hábitat, lo que sugiere que el Guano podría ser una fuente de NPK.

A nivel general la concentración de NPK del Guano es superior a las muestras de suelo, lo que sugiere que podría ser un buen fertilizante químico, además con las bacterias

encontradas también a su vez podría ser un buen fertilizante biológico.

Al comparar el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* en suelo con y sin Guano se evidencia el doble de crecimiento del follaje en un igual periodo de 31 días en suelo con Guano, determinando que este puede ser un biofertilizante eficiente para *Phaseolus vulgaris*.

Contribución de la autoría. **Danna Marcela Piraquive Bermúdez:** metodología, análisis de datos, conceptualización y escritura del borrador original. **Hugo Mauricio Jiménez Melo:** seguimiento de la metodología y laboratorio, análisis de datos, revisión y edición.

Reconocimientos. Ing. John Steve Vanegas y MSc. Ricardo Martínez.

Referencias

- [1] Aguilar, I. (2014). *Preparación y evaluación en suelo de fertilizantes de liberación controlada (NPK) cubiertos con polímeros biodegradables*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [2] Aguilar, M., Renjifo, L., y Pérez, J. (2014). Dispersión de semillas por murciélagos a través de cuatro estados sucesionales de un paisaje Subandino. *Biota Colombiana*, 15 (2).
- [3] Barquez, R., Pérez, S., Miller, B. & amp, Díaz, M. (2015). *Carollia perspicillata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015:e.T3905A22133716. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T3905A22133716.en>. Accessed on 01 August 2022.
- [4] Bernal, R., Nabte, M., Cordero, E., y Sánchez, R. (2015). *Murciélagos y techos*, Costa Rica, Facultad de ciencias. https://www.researchgate.net/publication/327752085_Murcielagos_y_techos
- [5] Calvo, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Dialnet*. pp. 173- 186. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3761553.pdf>
- [6] Cardona, W. (2017). *Requerimientos nutricionales (nitrógeno, fósforo, potasio y calcio) en etapa vegetativa y reproductiva de un cultivo de mora (Rubus glaucus Benth.), ubicado en el municipio de Silvania (Cundinamarca)*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [7] Chamorro, D., Sierra, E., Restrepo, J., Gómez, J y Barahona, R. (2013). Análisis de ciclo de vida del balance de N-P-K en dos sistemas de producción agropecuaria en bosque seco tropical. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, pp. 405-407. <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295060031023.pdf>
- [8] Corrales, L., Caicedo, L., Gómez, M., Ramos, S y J. Rodríguez, 2017. *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *NOVA*. 15 (27): 45 – 65.
- [9] Costa, J y Ocete, C. (s.f.). *Nitratos en el suelo*. Universidad de Granada, España. <http://www.ugr.es/~cjl/Nitrogeno%20en%20suelos.pdf>
- [10] Delgado, B. (2020). La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Revista de Protección Vegetal*, 35(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522020000100001&lng=es&tlng=es.
- [11] Díaz, M., Aguirre, L y Barquez, R. (2011). Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica. Centro de Estudios en Biología Teórica y Aplicada. Cochabamba, Bolivia. 43 pp Pelaje
- [12] Díaz, M., Solari, S., Aguirre, L., Aguiar, L y Barquez, R. (2016). Clave de identificación de los murciélagos de Sudamérica. *Ceiba* 54(2):93-117 https://www.researchgate.net/publication/311492145_CLAVE_DE_IDENTIFICACION_DE_LOS_MURCIELAGOS_DE_SUDAMERICA/citation/download
- [13] Fertiberia. (2017). Abonos complejos NPK. Dossier de producto. Madrid, España. <https://www.fertiberia.com/media/217491/17-complejos-npk.pdf>
- [14] Freire, M. A. (2012). Evaluación en fertilización de NPK –Ca en el cultivo de *Alstroemeria Alstroemeria hybrida*?. (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [15] Galicia, M., Buenrostro, A y García, J. (2014). Diversidad específica bacteriana en murciélagos de distintos gremios alimenticios en la sierra sur de Oaxaca, México. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1673-1681. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442014000400032&lng=en&tlng=es.
- [16] IDEAM. (s.f.). Suelos en Colombia. Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales. <http://www.ideam.gov.co/web/siac/sueloscolombia>
- [17] IGAC. (s.f.). De los 53 millones de hectáreas intervenidas en Colombia, el 61% presenta un uso inadecuado del suelo. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Colombia. <https://igac.gov.co/es/noticias/de-las-53-millones-de-hectareas-intervenidas-en-colombia-el-61-presenta-un-uso-inadecuado>
- [18] Minambiente. (2022). Rescatando la biodiversidad colombiana. Nuestra fauna como escenario del Bicentenario de la campaña libertadora. <https://www.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2022/06/RESCATANDO-LA-BIODIVERSIDAD.-FAUNA-Nov.-84.pdf>
- [19] Montaña, N y Sánchez, J. (2014). Nitrificación en Suelos Tropicales, asunto de competencia microbiana: un modelo basado en la Teoría de Lotka – Volterra. *Ecosistemas* 23(3): 98-104. Asociación Española de Ecología Terrestre. www.revistaecosistemas.net
- [20] Mora, J. M. (2017). Clave para la Identificación de las Especies de Murciélagos de Honduras. *Ceiba* 54(2).32-3.
- [21] Muñoz, P. (2006). *Pesquisa de fauna parasitaria del Murciélago común (tadarida brasiliensis) en la región metropolitana*. Repositorio académico de la ciudad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130808>
- [22] Organización red de árboles. (2019). Informe gestión. <https://www.reddearboles.org/imagenes/Informe-2019.pdf>
- [23] Pérez, J. (s.f.). *Aplicación de Nitrosomonas*. Universidad autónoma de Barcelona. <http://hdl.handle.net/10803/5294>
- [24] Pérez, L., Rodríguez, L y Gómez, M. (2008). Efecto del fraccionamiento de la fertilización con N, P, K y mg y la aplicación de los micronutrientes B, mn y zn en el rendimiento y calidad de papa criolla (Solanum phureja) variedad Criolla Colombia. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 477-486. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000300013&lng=en&tlng=es.
- [25] Puentes, N. (2020). *Respuesta de la variedad Criolla Colombia (Grupo Phureja) a diferentes dosis de fertilizante NPK recubierto con hidrogel a base de carragenina*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [26] Restrepo, Eliana, Pineda, C, Ríos, L. 2012. Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Rev. Chapingo ser. cienc. for. Ambiente*. vol.18 no.3. UNAM. México
- [27] Romero, M. (2018). Uso eficiente de nutrientes (NPK) en Capsicum chinense tipo Habanero y Capsicum frutescens tipo Tabasco. (tesis de posgrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- [28] UDLF UFL. (2016). Fertilizantes. Universidad de la Florida, Estados Unidos. https://fl.ifas.ufl.edu/gibmp-resources/Spanish/Spanish-Module-5-Fertilizer_SpeakerNotes_2016-06.pdf

- [29] Ünal, M., Can, O., Can, B & Poyraz, K. (2018). The Effect of Bat Guano Applied to the Soil in Different Forms and Doses on Some Plant Nutrient Contents. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 49. 1-9. 10.1080/00103624.2018.1434540.
- [30] UPRA. (s.f.). Colombia: 26,5 millones de hectáreas con vocación agro. Unidad de planificación rural agropecuaria. Bogotá, Colombia. https://upra.gov.co/sala-de-prensa/noticias/-/asset_publisher/GEKyUuxHYSXZ/content/colombia-26-5-millones-de-hectareas-con-vocacion-agro
- [31] Valencia, H. 2010. Manual de Prácticas de Microbiología de Suelo. Facultad de Ciencia. Universidad Nacional de Colombia
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismal, S & Nasrulhaq, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules* 2016, 21, 573; doi:10.3390/molecules21050573.
- [32] Vistoso, E y Martínez, J. (2021). Consideraciones para la preparación de mezclas de fertilizantes. Instituto de Investigaciones agropecuarias - informativo N° 279.
- [33] Zambrano, J., Rodríguez, E y Pire, R. (2002). Crecimiento, producción y extracción de N-P K en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) ante diferentes dosis de fertilizante. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 46. 85-88