

**UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO**

FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**“CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN
DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO
AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES
PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA- CARHUAZ - 2021, COMO
POTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA AMBIENTAL

Tesista: Br. BECKY MILAGRITOS COCHACHIN SORIA.

Asesor: Dr. PERCY EDUARDO OLIVERA GONZALES

Huaraz-Perú

2023





"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

ACTA DE SUSTENTACIÓN Y DEFENSA DE TESIS

Los miembros del Jurado Evaluador de Tesis, en pleno que suscriben, reunidos el día veintiséis de julio del dos mil veintitrés, en el Auditorium de la Facultad de Ciencias del Ambiente (FCAM) de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (UNASAM), de conformidad a la normatividad vigente condujeron el acto académico público de sustentación y defensa de la tesis "**CARACTERIZACION DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCION DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLIMPICA – CARHUAZ - 2021, COMO POTENCIAL EN FITORREMEDIACION ASISTIDA**" que presentó **COCHACHIN SORIA BECKY MILAGRITOS**, para optar el **Título Profesional de Ingeniero Ambiental**.

Después de haber atendido la sustentación y defensa oral, y haber escuchado las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

Aprobada.....

Con el calificativo de: *Dieciséis* (16)

En consecuencia, **COCHACHIN SORIA BECKY MILAGRITOS**, queda expedito para que el Consejo de Facultad de la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" apruebe el otorgamiento de su **Título Profesional de Ingeniero Ambiental** de conformidad al Art. 113 numeral 113.9 del Reglamento General de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario N° 399-2015-UNASAM), el Art. 48° y 4ta. disposición complementaria del Reglamento General de Grados y Títulos de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 761-2017-UNASAM).

Huaraz, 26 de julio 2023

Dr. HERACLIO FERNANDO CASTILLO PICON
Presidente
Jurado de sustentación

Dr. ALFREDO WALTER REYES NOLASCO
Primer miembro
Jurado de sustentación

M.Sc. FLORMILA VIOLETA VICUÑA PEREZ
Segundo miembro
Jurado de sustentación

Dr. PERCY EDUARDO OLIVERA GONZALES
Asesor de tesista




CONSTANCIA 008-2023-UI-FCAM–UNASAM EVALUACIÓN DE SIMILITUD

El que suscribe, Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo hace constar que:

La versión final de la tesis “**CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA – CARHUAZ – 2021, COMO POTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA**”, de la Señorita **BECKY MILAGRITOS COCHACHIN SORIA**, identificada con **DNI N°76418481**, código **141.0605.033**, tras ser sometido a revisión mediante la plataforma de evaluación de similitud por su asesor el Dr. **Percy Eduardo Olivera Gonzales**, y el suscrito, conforme al Artículo 11° del Reglamento de Originalidad y/o Grado de Similitud de la Producción Académica, Científica e Investigativa de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Resolución de Consejo Universitario N°126-2022-UNASAM, tiene un **porcentaje de 8% de similitud**.

Se expide la presente constancia, a solicitud del interesado para los fines que estime pertinente.

Huaraz, **04 de setiembre de 2023**.

 
Dr. Edwin Julio Palomino Cadenas
DIRECTOR
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
FCAM - UNASAM

Anexo de la R.C.U N° 126 -2022 -UNASAM
ANEXO 1
INFORME DE SIMILITUD.

El que suscribe (asesor) del trabajo de investigación titulado:

Presentado por:

con DNI N°:

para optar el Título Profesional de:

Informo que el documento del trabajo anteriormente indicado ha sido sometido a revisión, mediante la plataforma de evaluación de similitud, conforme al Artículo 11 ° del presente reglamento y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de : de similitud.

Evaluación y acciones del reporte de similitud de los trabajos de los estudiantes/ tesis de pre grado (Art. 11, inc. 1).

Porcentaje		Evaluación y acciones	Seleccione donde corresponda <input checked="" type="radio"/>
Trabajos de estudiantes	Tesis de pregrado		
Del 1 al 30%	Del 1 al 25%	Esta dentro del rango aceptable de similitud y podrá pasar al siguiente paso según sea el caso.	
Del 31 al 50%	Del 26 al 50%	Se debe devolver al estudiante o egresado para las correcciones con las sugerencias que amerita y que se presente nuevamente el trabajo.	
Mayores a 51%	Mayores a 51%	El docente o asesor que es el responsable de la revisión del documento emite un informe y el autor recibe una observación en un primer momento y si persistiese el trabajo es invalidado.	

Por tanto, en mi condición de Asesor/ Jefe de Grados y Títulos de la EPG UNASAM/ Director o Editor responsable, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del software anti-plagio.

Huaraz,



FIRMA

Apellidos y Nombres: _____

DNI N°: _____

Se adjunta:

1. Reporte completo Generado por la plataforma de evaluación de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

Informe final-TESIS-Cochachin Soria.pdf

AUTOR

Becky Cochachin

RECUENTO DE PALABRAS

21070 Words

RECUENTO DE CARACTERES

113193 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

105 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

45.1MB

FECHA DE ENTREGA

Sep 4, 2023 9:46 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Sep 4, 2023 9:48 PM GMT-5**● 8% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 8% Base de datos de Internet
- 0% Base de datos de publicaciones

● Excluir del Reporte de Similitud

- Base de datos de Crossref
- Base de datos de trabajos entregados
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- Material bibliográfico
- Material citado

DEDICATORIA

A mi madre Ana Soria por su paciencia,
comprensión y apoyo incondicional
durante esta etapa de mi vida.

A mi abuelita Tarcila por siempre
estar presente en cada paso que doy.

A mi hermano y tío por ser mi ejemplo a
seguir en valores y perseverancia.

A mi abuelito y bisabuelita que desde el cielo
me guían y sé que estarían orgullosos de mí.

Becky Milagritos Cochachin Soria



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Percy Olivera Gonzales por su asesoría, consejos y apoyo en todo el desarrollo de mi investigación.

A la Dra. Carmen Tamariz Ángeles por su co-asesoramiento, por todos los conocimientos impartidos, su ardua labor y por toda la paciencia durante su intervención en la investigación de mi tesis.

A mi alma mater, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo que a través del Vicerrectorado de Investigación contribuyó en el desarrollo de mi investigación mediante la Subvención de Tesis (RCU-R N°416-2022-UNASAM).

A la Facultad de Ciencias del Ambiente por brindarme conocimientos dentro de sus aulas y por medio de los docentes colaboraron con mi formación como profesional.

Al Centro de Investigación de Biodiversidad y Recursos Genéticos de Ancash (CIByRGA) que me dio las facilidades para el desarrollo de la presente investigación.

Al MSc. Felipe Huanachin Carahuanco por la ayuda en la interpretación de los análisis de los metagenomas.

A todos mis compañeros de laboratorio que me dieron su apoyo y motivación en toda la realización del trabajo experimental y que pueden ver plasmado en esta investigación, les agradezco toda la colaboración que me brindaron incluso en horas fuera de laboratorio.

A mi familia y amigos más cercanos que me han acompañado a lo largo de mi carrera profesional y por motivarme a no rendirme frente a ningún obstáculo por más grande que sea.



RESUMEN

La fitorremediación asistida por microorganismos es una de las técnicas que puede ser una de las más eficientes y menos costosas. Un consorcio aumenta el rendimiento de la fitorremediación en comparación con la inoculación de una sola cepa. De este modo el objetivo de la investigación fue caracterizar las propiedades promotoras de crecimiento vegetal de un consorcio microbiano aislado de la Punta Olímpica. Se colectaron 4 muestras de suelo de diferentes puntos, de los cuales se aislaron los consorcios de bacterias y hongos obteniendo 8 consorcios iniciales y 8 subcultivos enriquecidos con Cd (0.2 mM) y Pb (1mM). Se evaluaron las pruebas de promoción de crecimiento vegetal a los 16 consorcios a 15°C y 24°C, se escogieron a los mejores consorcios que produjeron AIA, sideróforos y solubilizaron fosfatos, el mayor productor para AIA a ambas temperaturas fue M3B-HM (229.18 µg/ml y 181.18 µg/ml respectivamente) en comparación con los consorcios de hongos, su máxima producción fue de 28.7 µg/ml. La mayor producción de sideróforos fue de M2H (46%) y M3B-HM (10.06%). El mayor Índice de Solubilización de Fosfato para los consorcios de bacterias a 15°C y a 24°C fueron M3B-HM (3.1) y M2B (3.3) respectivamente, considerados con alto nivel de IFS. Para el consorcio de hongos, se encontró un nivel medio y bajo de IFS. Para la prueba de bioensayo *in vitro* de trigo inoculado con M3B-HM, se enriqueció con Pb (2mM), Cd (1mM) y Al (2.5mM), Cd y Pb por la abundancia de estos metales pesados en nuestra región y el Al por la toxicidad que representa para las raíces. Además, se encontró *Rhanella*, *Pseudomona*, *Enterobacter*, *Serratia*, en la diversidad microbiana de M3B-HM. Los resultados evidenciaron las propiedades de promoción de crecimiento vegetal del consorcio en las plantas de trigo al obtener aumento de raíces laterales en el trigo inoculado con M3B-HM + Cd, Pb y Al generando un aumento de biomasa fresca y peso seco en las raíces; estas características ayudan a que la planta extraiga y absorba más nutrientes.

Palabras clave: Consorcio, metales pesados, *in vitro*, diversidad microbiana.

ABSTRACT

Microorganism-assisted phytoremediation is one of the techniques that can be one of the most efficient and least expensive. A consortium increases the performance of phytoremediation compared to single strain inoculation. Thus, the objective of the research was to characterize the plant growth promoting properties of a microbial consortium isolated from Punta Olimpica. Four soil samples were collected from different points, from which the bacterial and fungal consortia were isolated, obtaining 8 initial consortia and 8 subcultures enriched with Cd (0.2 mM) and Pb (1 mM). Plant growth promotion tests were evaluated to the 16 consortia at 15°C and 24°C, the best consortia that produced AIA, siderophores and solubilized phosphates were chosen, the highest producer for AIA at both temperatures was M3B-HM (229.18 µg/ml and 181.18 µg/ml respectively) compared to the fungal consortia, its maximum production was 28.7 µg/ml. The highest siderophore production was from M2H (46%) and M3B-HM (10.06%). The highest Phosphate Solubilization Index for the bacterial consortia at 15°C and at 24°C were M3B-HM (3.1) and M2B (3.3) respectively, considered to have high IFS. For the fungal consortium, a medium and low level of IFS was found. For the *in vitro* bioassay test of wheat inoculated with M3B-HM, it was enriched with Pb (2 mM), Cd (1 mM) and Al (2.5 mM), Cd and Pb because of the abundance of these heavy metals in our region and Al because of the toxicity it represents for the roots. In addition, *Rhanella*, *Pseudomona*, *Enterobacter*, *Serratia*, were found in the microbial diversity of M3B-HM. The results evidenced the plant growth promoting properties of the consortium in wheat plants by obtaining an increase in lateral roots in wheat inoculated with M3B-HM + Cd, Pb and Al, generating an increase in fresh biomass and dry weight in the roots; these characteristics help the plant to extract and absorb more nutrients.

Key words: Consortium, heavy metals, *in vitro*, microbial diversity.

ÍNDICE

CONTENIDO	pág
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1.Objetivos.....	2
1.2.Hipótesis.....	3
1.3.Operacionalización de variables	4
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1.Antecedentes de la investigación.....	5
2.2.Bases teóricas de la investigación	9
2.2.1.Contaminación por metales pesados.....	9
2.2.2.Biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.	11
2.2.3.Fitorremediación de suelos	12
2.2.4.Microorganismos promotores del crecimiento vegetal	13
2.2.5.Análisis metagenómico microbiano	19
2.3.Definición de términos básicos	20
CAPÍTULO III	21
METODOLOGÍA	21
3.1.Tipo de investigación	21
3.2.Diseño de la investigación	21
3.3.Métodos o técnicas	23
3.4.Población y muestra.....	28
3.5.Instrumentos validados de recolección de datos.....	28
3.6.Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información	29
CAPÍTULO IV	30
RESULTADOS	30
4.1.Consorcios microbianos aislados y caracterizados fisicoquímicamente de los suelos colectados de la Punta Olímpica	30
4.2.Producción de ácido indolacético, sideróforos, y solubilización de fosfatos en el consorcio microbiano aislado.	32

4.3. Bioensayo para medir el efecto del consorcio microbiano sobre <i>Triticum aestivum</i> bajo condiciones de estrés por metales pesados.	38
4.4. Diversidad taxonómica de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica con mejores resultados.	49
CAPÍTULO V	52
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
CAPÍTULO VI	59
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
6.1. Conclusiones	59
6.2. Recomendaciones	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Procesos utilizados en la fitorremediación de metales pesados	12
Figura 2 Mecanismos de acción de bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP) en suelos contaminados con elementos potencialmente tóxico .	15
Figura 3 Mecanismos directos de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal al ser inoculadas en la planta	18
Figura 4 Resumen de la metodología de la investigación	22
Figura 5 Comparación de la cantidad de microorganismos de los consorcios sin metal pesado y con metal pesado	32
Figura 6 Producción de AIA por consorcio de bacterias en 24, 48 y 72 horas a 15°C	32
Figura 7 Producción de AIA por consorcio de bacterias en 24, 48 y 72 horas a 24°C	33
Figura 8 Producción de AIA por consorcio de hongos en 6, 9, 12 y 15 días a 15°C	34
Figura 9 Producción de AIA por consorcio de hongos en 6, 9, 12 y 15 días a 24°C	34
Figura 10 Producción de unidades sideróforas en consorcio de bacterias a 15°C y 24°C	35
Figura 11 Producción de unidades sideróforas en consorcio de hongos a 15°C y 24°C	35
Figura 12 Índice de Solubilización de Fosfato (IFS) en consorcio de bacterias a 15°C y 24°C	36
Figura 13 Índice de Solubilización de Fosfato (IFS) en consorcio de hongos a 15°C y 24°C	37
Figura 14 Germinación del trigo en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C	38
Figura 15 Germinación del trigo con Cd en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C	39

Figura 16	Germinación del trigo con Pb en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C	39
Figura 17	Germinación del trigo con Al en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C.....	40
Figura 18	Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de filo	49
Figura 19	Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de clase ..	49
Figura 20	Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de orden..	50
Figura 21	Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de familia	50
Figura 22	Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de género	51
Figura 23	Aislamiento de los consorcios microbianos	78
Figura 24	Prueba de solubilización de fosfatos a los consorcios microbianos a 24°C.....	79
Figura 25	Bioensayo in vitro con trigo inoculado	80
Figura 26	Comparación de las raíces de trigo a 15°C y 24°C	81
Figura 27	Evidencia de pruebas en laboratorio	82

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Operacionalización de las variables de investigación	4
Tabla 2	Coordenadas de los puntos de muestreo de la Punta Olímpica.....	30
Tabla 3	Resultados de los análisis de fertilidad	31
Tabla 4	Resultados de los análisis de metales pesados.....	31
Tabla 5	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo a 15°C	40
Tabla 6	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo a 24°C	41
Tabla 7	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Cd a 15°C	41
Tabla 8	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Cd a 24°C	42
Tabla 9	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Pb a 15°C	42
Tabla 10	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Pb a 24°C	43
Tabla 11	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Al a 15°C	43
Tabla 12	Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Al a 24°C	44
Tabla 13	Efecto del consorcio microbiano en la biomasa fresca y materia seca 15°C	44
Tabla 14	Efecto del consorcio microbiano en la biomasa fresca y materia seca 24°C	45
Tabla 15	Efecto del consorcio microbiano con Cd en la biomasa fresca y materia seca 15°C	45
Tabla 16	Efecto del consorcio microbiano con Cd en la biomasa fresca y materia seca 24°C	46

Tabla 17 Efecto del consorcio microbiano con Pb en la biomasa fresca y materia seca 15°C.....	46
Tabla 18 Efecto del consorcio microbiano con Pb en la biomasa fresca y materia seca 24°C.....	47
Tabla 19 Efecto del consorcio microbiano con Al en la biomasa fresca y materia seca 15°C.....	47
Tabla 20 Efecto del consorcio microbiano con Al en la biomasa fresca y materia seca 24°C.....	48
Tabla 21 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 24h en 24°C.....	83
Tabla 22 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 24h en 15°C.....	83
Tabla 23 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 48h en 24°C.....	83
Tabla 24 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 48h en 15°C.....	84
Tabla 25 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 72h en 24°C.....	84
Tabla 26 ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 72h en 15°C.....	84
Tabla 27 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 6 días en 24°C.....	85
Tabla 28 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 6 días en 15°C.....	85
Tabla 29 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 9 días en 24°C.....	85
Tabla 30 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 9 días en 15°C.....	86
Tabla 31 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 12 días en 24°C.....	86
Tabla 32 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 12 días en 15°C.....	86
Tabla 33 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 15 días en 24°C.....	87
Tabla 34 ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 15 días en 15°C.....	87
Tabla 35 ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios bacterianos a 24°C.....	87
Tabla 36 ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios bacterianos a 15°C.....	88
Tabla 37 ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios de hongos a 24°C.....	88

Tabla 38 ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios de hongos a 15°C.....	88
Tabla 39 ANOVA de IFS por consorcios de bacterias a 24°C	89
Tabla 40 ANOVA de IFS por consorcios de bacterias a 15°C	89
Tabla 41 ANOVA de IFS por consorcios de hongos a 24°C.....	89
Tabla 42 ANOVA de IFS por consorcios de hongos a 15°C.....	90
Tabla 43 ANOVA de biomasa fresca de trigo, M2B y M3B-HM a 24°C.....	90
Tabla 44 ANOVA de materia seca de trigo, M2B y M3B-HM a 24°C.....	90
Tabla 45 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 24°C	91
Tabla 46 ANOVA de materia seca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 24°C ...	91
Tabla 47 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 24° C	91
Tabla 48 ANOVA de materia seca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 24°C....	92
Tabla 49 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 24°C	92
Tabla 50 ANOVA de materia seca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 24°C ...	92
Tabla 51 ANOVA de biomasa fresca de trigo, M2B y M3B-HM a 15°C.....	93
Tabla 52 ANOVA de materia seca de trigo, M2B y M3B-HM a 15°C.....	93
Tabla 53 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 15°C	93
Tabla 54 ANOVA de materia seca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 15°C ...	94
Tabla 55 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 15°C	94
Tabla 56 ANOVA de materia seca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 15°C....	94
Tabla 57 ANOVA de biomasa fresca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 15°C....	95
Tabla 58 ANOVA de materia seca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 15°C ...	95

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo por metales pesados es un problema ambiental que afecta la salud humana y ambiental, debido a la naturaleza persistente de los contaminantes los cuales no se degradan y podrían acumularse en los tejidos de los seres vivos (Kneževića et al., 2021; Ali et al., 2013). La fuente de los metales pesados puede ser antropogénica o natural, este último puede ser por meteorización, actividad volcánica o drenaje ácido de roca (Wuana & Okieimen, 2011), las altas concentraciones de metales pesados como el Pb, Cd, Al, Hg, Cr y As son muy tóxicos para las plantas y a su vez para la cadena alimentaria (Yahaghi et al., 2019).

El uso de plantas con características fitorremediadoras actualmente resulta ser una de las tecnologías con mayor ventaja debido al costo, belleza paisajística y con rendimiento en la reducción de metal pesado de un suelo contaminado con metales pesados (Ojuederie & Babalola, 2017; Ali et al., 2013), la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento vegetal mejora el crecimiento de la planta, aumentando los niveles de fitohormonas, otorgando mayor tolerancia a estrés por metales pesados y mejorando el rendimiento de absorción de estos (Kumar & Verma, 2018).

Las mezclas de microorganismos o consorcios microbianos han sido tema de investigación a lo largo de los años con el fin de estudiar las



interacciones sinérgicas que tienen entre ellas (Kang et al., 2016). Es por esto que se aplican los consorcios microbianos para estudios ambientales tomando en cuenta diferentes características como producir fitohormonas de ácido indolacético, sideróforos y solubilizar fosfatos, la interacción que tienen con los metales pesados y la capacidad de promover el crecimiento vegetal son determinantes para que la fitorremediación asistida pueda ser satisfactoria (Xie et al., 2021; Yahaghi et al., 2019).

El presente trabajo de investigación tiene como propósito caracterizar las propiedades promotoras de crecimiento vegetal de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica para evaluar su potencial en fitorremediación asistida utilizando el trigo a nivel *in vitro*, los suelos al ser extraídos de un clima de hasta -4°C también presentan especies del género *Pseudomona*, como *P. psychrophila* o psicrotolerantes al frío las cuales ayudan en el aumento de biomasa fresca y seca a la planta. Dentro de los consorcios estudiados se encontró una gran diversidad microbiana que poseen capacidad de tolerancia al Pb y resistencia al Cd como *Serratia* y *Bacillus*.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. GENERAL

Caracterizar las propiedades de promoción de crecimiento vegetal de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica - Carhuaz - 2021, como potencial en fitorremediación asistida.

1.1.2. ESPECÍFICOS

- Colectar suelos contaminados por metales pesados de la Punta Olímpica, caracterizarlos fisicoquímicamente y aislar consorcios microbianos de los mismos.
- Analizar la producción de ácido indolacético, sideróforos y solubilización de fosfatos por los consorcios microbianos aislados.

- Realizar un bioensayo para medir el efecto del consorcio microbiano sobre *Triticum aestivum* cultivado bajo condiciones de estrés por metales pesados.
- Identificar la diversidad taxonómica del consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica.

1.2. HIPÓTESIS

El consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica – Carhuaz - 2021 tiene por lo menos una propiedad de promoción de crecimiento vegetal como potencial en fitorremediación asistida.

1.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1

Operacionalización de las variables de investigación

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
De caracterización: Consortio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica.	Caracterización del consorcio	Característica fisicoquímica del suelo	Análisis de metales y análisis de fertilidad	Espectrofotómetro ICP-Masas
De interés: Características de las propiedades de promoción de crecimiento vegetal como potencial de fitorremediación.	Propiedades de promoción de crecimiento vegetal	Producción de AIA (mg/ml)	Cultivo con triptófano	Espectrofotómetro
		Índice de sideróforos	Medio Cromo	Espectrofotómetro Azurol (CAS)
		Índice de solubilización de fosfato	Cultivo con tri-fosfato de calcio	Espectrofotómetro
	Efectos en el crecimiento de <i>Triticum aestivum</i> en condiciones de estrés con metales pesados	Germinación de semillas	<i>In vitro</i>	Contador
		Características del crecimiento de la planta: longitud de raíces (cm), longitud de tallo (cm), biomasa fresca (g) y peso seco (g).	<i>In vitro</i>	Vernier y balanza

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

- En la investigación de Kneževića et al. (2021): “***The ability of a new strain of Bacillus pseudomycoides to improve the germination of alfalfa seeds in the presence of fungal infection or chromium***” tuvieron como objetivo mejorar la germinación de las semillas de alfalfa en condiciones de estrés por cromo o infección por *Fusarium* mediante la inoculación en las semillas de donde se seleccionó la nueva cepa BM1 de *Bacillus pseudomycoides* como inoculante según su capacidad para suprimir los patógenos de las plantas y tolerar concentraciones elevadas de cromo, esta cepa fue indentificada y aislada mediante la secuencia de ADNr 16S del suelo de la rizosfera de *Medicago sativa*, se estudió la capacidad de producir la fitohormona ácido indolacético, sideróforos, cianuro de hidrógeno, lipasa extracelular, celulasa, pectinasa y solubilización de fosfatos, donde se confirmó que esta rhizobacteria es capaz de producir los mecanismos descritos; el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Medicago sativa* infectadas por *F. oxysporum* (*in vitro*) se redujo del 27,87% al 2,46%, por tal motivo concluyó que el mayor incremento de la longitud de las raíces y de los tallos del 12,36% y del 21,43% al aplicar la cepa BM1.
- La investigación de Kang et al. (2016), “***Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures***”, tuvo como objetivo determinar el efecto de

conjunto de cepas bacterianas en la biorremediación con enriquecimiento polimetálico de Pb, Cd y Cu de suelos contaminados. Por lo cual, aislaron e identificaron cuatro cepas bacterianas *Viridibacillus arenosi* B-21, *Sporosarcina soli* B-22, *Enterobacter cloacae* KJ-46 y *E. cloacae* KJ-47- obtenidas de un yacimiento minero abandonado en Corea, en los ensayos se controló la densidad óptica, pH, producción de calcita, actividad de la ureasa, prueba de impermeabilidad y tolerancia a los metales pesados, la conclusión fue que las mezclas bacterianas demostraron una mayor resistencia y eficiencia para la remediación de metales pesados en comparación con los cultivos de una sola cepa, donde se registró una remediación del 98,3% para el Pb, del 85,4% para el Cd y del 5,6% para el Cu.

- La tesis “**Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados**” tuvo como objetivo aislar, identificar, caracterizar y utilizar microorganismos nativos degradadores de cianuro producto de la actividad minera aurífera y argentífera en la región La Libertad, se aisló e identificó molecularmente 89 cepas microbianas, siendo los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Alcaligenes* los más abundantes y constituyeron el mejor consorcio con 8 cepas de estos géneros, se concluyó que las cepas bacterianas demostraron tener mayores ventajas para su implementación en procesos de biorremediación, de las cuales 32 fueron seleccionadas por su capacidad de tolerar y asimilar el cianuro donde encontraron *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Bacillus* que de manera individual o en consorcios pueden ser eficaces en la biorremediación de ambientes contaminados con cianuro producto de la minería (Cornejo, 2016).

- Según la tesis de Castilla y Carrillo (2014) : “**Determinación y selección de un consorcio de microorganismos nativos de relaves mineros, capaces de remover Cu (II) de una solución mineral sintética en un biorreactor RAEFA-EZ**” realizada en la ciudad de Arequipa en el año 2014, que tuvo como objetivo principal evaluar la capacidad de remoción de Cu por un consorcio microbiano seleccionado aislado de relaves mineros del cual aislaron 16 cepas bacterianas

de relaves mineros de Xstrata Tintaya, donde seleccionaron las cepas formando 11 consorcios con capacidad de remoción de Cu (II) y de acuerdo a la curva de crecimiento de cepa seleccionaron al mejor consorcio, así mismo se concluyó que el consorcio seleccionado fue el de las bacterias, identificadas como *Ralstonia spp. 1* y *Ralstonia spp. 2*, con un porcentaje de remoción del 36,04 % de Cu (II).

- En la investigación de Ulloa-Muñoz et al. (2020) “**Diversity of endophytic plant-growth microorganisms from *Gentianella weberbaueri* and *Valeriana pycnantha*, highland Peruvian medicinal plants**” realizada en la Quebrada Churup- Huaraz, realizaron la colecta de *Gentianella weberbaueri* y *Valeriana pycnantha*, mediante la secuencia de ADNr 16S se demostró que las cepas bacterianas pertenecen a los géneros *Rahnella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rouxiella* y *Bacillus*; mientras que la secuencia de ITS demostró que los hongos pertenecen a los géneros *Pyrenochaeta*, *Scleroconidioma*, *Cryptococcus* y *Plenodomus*. *Rahnella sp. GT24B* y *P. trivialis VT20B*, a todas las cepas se les realizó pruebas de producción de ácido indol-acético, sideróforos y solubilización de fosfatos 10°C y 24 °C, la conclusión obtenida fue que obtuvieron gran diversidad microbiana que permanece desconocida en las montañas en donde encontraron microorganismos con propiedades promotoras del crecimiento vegetal en condiciones de frío, por otro lado, la mayoría de las plantas de *Medicago sativa* "alfalfa" y *Triticum aestivum* "trigo" tuvieron mejor desarrollo de las raíces con *Rahnella sp. GT24B*, *Rouxiella sp. VT24B*, *Serratia sp. VT28B*, y *Rahnella sp. VT34B*.

- Según la investigación de Muñoz-Silva et al. (2019). “**Heavy metals tolerant microorganisms from mine tailing wastelands Santa Rosa, Jangas (Peru)**”, realizadas con muestras del pasivo minero Santa Rosa de Jangas, cuyo estudio estuvo centrado en hallar hongos y bacterias aisladas de suelos con y sin rizósfera, con tolerancia a metales pesados, cuyo propósito sea conocer su potencial en biorremediación. Se utilizó las secuencias de ITS y 16S ADNr, para la identificación taxonómica de hongos y bacterias aislados respectivamente donde calculó el índice de tolerancia a metales pesados utilizando 1 mM a plomo

(II), cobre (II), níquel (II) o zinc (II), y 0.1 mM a plata (I), cromo (VI) o cadmio (II), se aislaron una totalidad de 23 hongos y 18 bacterias y se concluyó que en los suelos del pasivo minero Santa Rosa se encontró una microflora de hongos y bacterias resistente a metales pesados demostrando que los hongos tienen mejores índices de tolerancia, los cuales podrían jugar el rol de promotores de crecimiento vegetal ayudando a la plantas a resistir los efectos tóxicos de los metales mediante la bioacumulación y reducción de los metales pesados.

- En la tesis: **“Evaluación de las potencialidades de los microorganismos asociados a plantas altoandinas para procesos de biorremediación, Punta Olímpica - Parque Nacional Huascarán – 2016”**, esta investigación tuvo como objetivo aislar microorganismos asociados (endofíticos) a plantas altoandinas o en su rizosfera (rizosféricos), y luego evaluarlas según sus características promotoras de crecimiento (sideróforos, AIA y solubilización de fosfatos), para poder usarlas en proceso de fitorremediación, estos aislados fueron bacterias y hongos. Reportó valores de AIA de hasta 53.42 µg/ml, producido por *Pseudomonas* sp. BEP18, para el caso de solubilización de fosfatos el mayor índice fue de *Penicilium* sp. HEP06, se realizaron pruebas de solubilización de carbonato de cadmio, donde *Pseudomonas* sp. BEP18, *Penicilium* sp. HEP06 e *Hydroxylon monticulosum* HRP01 mostraron altos índices de solubilización. La autora concluye que los microorganismos aislados y evaluados, presentan características para mejorar técnicas de biorremediación de espacios contaminados por metales. (Huamán, 2018).

- La tesis denominada: **“Caracterización de la comunidad microbiana asociada a la vegetación del pasivo minero ambiental Chahuapampa - Utcuyacu - Cátac y su potencial uso en la biorremediación – 2016”**, aisló microorganismos provenientes de plantas y suelo rizosférico que se encuentra en dicho pasivo ambiental minero, con el objetivo de caracterizarlos en cuanto a su promoción de crecimiento vegetal, a fin de apreciar su potencialidad en procesos de biorremediación. Se evaluó pruebas de producción de sideróforos, solubilización de carbonatos, solubilización de fosfato. producción de ácido indolacético, tolerancia a Cd y Pb a través de la Concentración Mínima Inhibitoria

(CMI), según la diversidad microbiana las cepas de bacterias pertenecían a las especies *Bacillus subtilis* y género *Hafnia sp.*, y las cepas de hongos al género *Penicillium*, así se concluyó que la existencia de una comunidad microbiana aislada de las plantas del pasivo minero Chahuapampa poseen la capacidad de ayudar en la biorremediación (Palacios, 2018).

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

2.2.1. CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS

Los metales pesados son aquellos metales que poseen efecto negativo en el ambiente mediante la contaminación de agua, aire y suelo, el nivel de toxicidad está delimitado por la duración a la exposición y la dosis que puede absorber un organismo (Ojuederie & Babalola, 2017), podrían ingresar a un ecosistema a partir de fuentes naturales como las actividades volcánicas, meteorización y erosión de rocas o minerales, por otra parte, las fuentes antropogénicas incluyen: actividades mineras, aplicación de pesticidas o fertilizantes, así como biosólidos en actividades agrícolas, los vertidos industriales, la deposición atmosférica, entre otros (Wuana & Okieimen, 2011).

Los metales pesados o pueden depositarse y acumularse en suelos con uso agrícola y por medio de este ingresar a la cadena trófica, evidenciando un gran problema que pone en riesgo la salud de los seres vivos ocasionando algunas enfermedades degenerativas y mortales, así también existen algunos metales que hacen función de micronutrientes en las plantas y animales, pero al aumentar su concentración interfieren en las funciones o reacciones metabólicas de los organismos vivos, metales pesados como mercurio (Hg), cromo (Cr), zinc (Zn), uranio (Ur), níquel (Ni), arsénico (As), selenio (Se), plata (Ag), oro (Au), plomo (Pb) y cadmio (Cd), no son de beneficio para las plantas, siendo por el contrario reductores del crecimiento y desarrollo de estas, reduciendo la capacidad de realizar fotosíntesis (Ojuederie & Babalola, 2017), esto sucede porque los metales no tienen mucha movilidad en el suelo y tienden a acumularse en el horizonte superficial biológicamente activo, haciendo que sean más accesibles para las plantas (Cabildo Miranda et al., 2013).

Además, el pH también juega un papel importante el cual nos da a conocer si un suelo es ácido o básico y así basarnos en la existencia de algún efecto perjudicial hacia el suelo afectando diversas propiedades del suelo como la estructura, porosidad, humedad, meteorización química, humificación, fijación de nitrógeno y absorción de nutrientes ; en un suelo ácido la materia orgánica puede ser un regulador de su acidez, en este se puede encontrar Al^{+3} , Mg^{+2} , Fe^{+3} los cuales son liberados por saturación de protones en las arcillas, el aluminio y magnesio en forma de cationes pasan a ser parte de la solución del suelo, Fe pasa a precipitarse como Fe_2O_3 observándose un color rojizo, uno de los efectos perjudiciales de la acidez en las plantas se da por la exposición al aluminio en la solución del suelo (López , 2006)

a. Cadmio

La exposición del cadmio al cuerpo humano en una larga duración origina problemas internos en los riñones, hígado y debilita las funciones del corazón (Ojuederie & Babalola, 2017),

En el suelo el cadmio puede lograr disminuir la biodiversidad y las actividades de comunidades microbianas (McGrath et al., 2000), este metal suele ser nocivo por su alta solubilidad y movilidad que en pequeñas concentraciones afecta a la planta, además dificulta la absorción de hierro (Brutti et al., 2018), a pesar de esta problemática las plantas desarrollan distintos mecanismos para contrarrestar los efectos de toxicidad del cadmio, evitando la absorción de metales y la desintoxicación a través de la quelación de algunos metabolitos como ácidos orgánicos, aminoácidos y compuestos fenólicos (Belimov et al., 2019).

b. Plomo

El plomo puede debilitar seriamente la salud humana en altas concentraciones y en corto periodo de tiempo, ocasionando pérdida en la coordinación y diferentes tipos de parálisis (Ojuederie & Babalola, 2017).

Un pH ácido aumenta la solubilidad de Pb, posee baja movilidad y por eso se acumula en los horizontes más superficiales del suelo (Brutti et al., 2018). El plomo afecta de negativamente en la morfología de diversas

especies de plantas (Jiang & Yan, 2017), inhibiendo el crecimiento, desarrollo radicular, germinación de semillas, proceso de evapotranspiración y eficiencia fotosintética (Onaga & Wydra, 2016).

c. Aluminio

Los efectos tóxicos del aluminio en suelos de cultivo ácidos, son uno de los causantes directos de la limitada producción de cultivos, los cuales comprenden el 30% de los suelos aproximadamente y hasta el 50% de las tierras potencialmente cultivables (Kochian et al., 2015). Uno de estos efectos negativos en las plantas, por presencia de Al es la disminución o inhibición de la elongación de raíces (Kopittke et al., 2015).

2.2.2. BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS

La biorremediación es una técnica que tiene como objetivo disminuir la concentración de contaminantes mediante procesos biológicos que pueden ser el de degradar, transformar o desintoxicar al medio, la eficacia de la biorremediación depende de los factores ambientales, así como de las características de los recursos utilizados y el grado de contaminación, estos recursos u organismos pueden ser endémicos, así como también puede ingresarse organismos provenientes de otros lugares (Azubuike et al., 2016; Tasleem et al., 2014).

El uso de microorganismos, se puede dar en la biorremediación microbiana y está relacionado con el potencial metabólico que tienen estos microorganismos de degradar los contaminantes y transformarlos en elementos inocuos mediante la desintoxicación del entorno utilizando microorganismos que tienen tolerancia a altas concentraciones de contaminantes como los metales pesados (Tasleem et al., 2014).

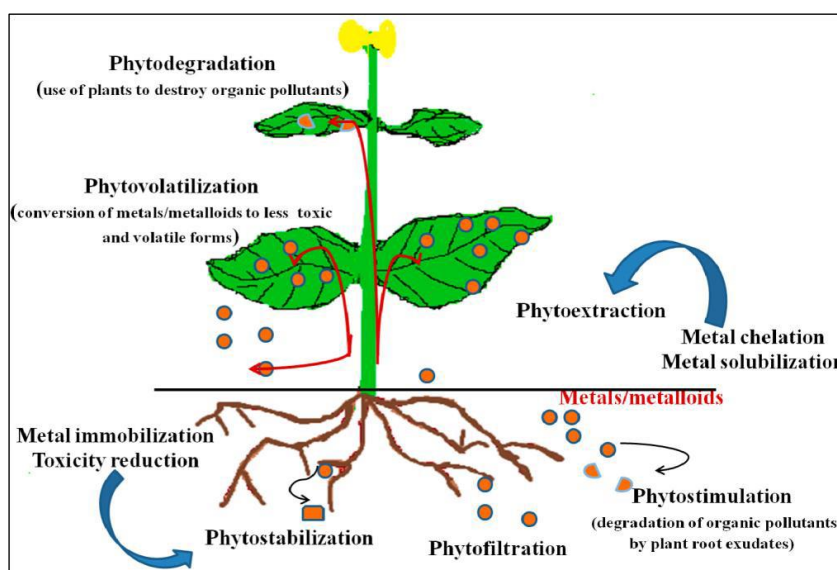
Según Kang *et al.* (2016) la efectividad de la biorremediación de metales pesados, presenta mejores resultados al utilizar un consorcio de bacterias, en comparación de solo usar un único cultivo de cepa, debido a que el efecto sinérgico del consorcio ayuda a biorremediar metales como plomo, cadmio y cobre de suelos contaminados con los mismos.

2.2.3. FITORREMIEDIACIÓN DE SUELOS

La fitorremediación es la técnica que utiliza plantas y microorganismos asociados del suelo, para reducir concentraciones nocivas o tóxicas de contaminantes del ambiente (Greipsson, 2011). Los procesos que ocurren en la fitorremediación pueden ser variados y se presentan en la Figura N°01 (Ojuederie & Babalola, 2017).

Figura 1

Procesos utilizados en la fitorremediación de metales pesados



Nota. Adaptado de “Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments” (p.8), por Ojuederie & Babalola, 2017, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 14(12).

Es así que la fitorremediación puede dividirse en fitoextracción (captación de contaminantes del suelo por la raíz de la planta y acumulación en la parte aérea), fitodegradación (limitado a la degradación de contaminantes orgánicos por sistemas planta-microbio, debido a que los metales pesados no son biodegradables), fitoestabilización (disminución de biodisponibilidad de contaminantes por parte de las plantas), rizofiltración (absorción de contaminantes en las raíces de las plantas) y fitovolatilización (volatilización de contaminantes orgánicos y ciertos metales como el Se y Hg por parte de las plantas) (Ali et al., 2013; Gadd, 2010), al utilizar la vegetación en suelos contaminados también se logra prevenir la erosión y lixiviación de los metales en

estos suelos, se suelen escoger las plantas de rápido crecimiento y alta producción de biomasa (Abhilash et al., 2012).

La fitorremediación puede utilizarse para controlar los metales pesados y otros, como los contaminantes orgánicos (Hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados y pesticidas), es considerada una biotecnología novedosa, que puede ser mejorada en cuanto a su eficiencia y respetuosa del ambiente, además que puede ser aplicada de manera *in situ* y basada en la energía solar (Vithanage et al., 2012).

2.2.3.1. Fitorremediación asistida

Es una técnica que busca asociar microorganismos con especies vegetales para aumentar el desarrollo de la planta y su capacidad fitorremediadora en sitios contaminados con el fin de mejorar la eficiencia de la fitorremediación reduciendo la contaminación en mayores concentraciones (Azubuike et al., 2016; Rajkumar et al., 2012), mediante las actividades microbianas que ocurren en los suelos rizosféricos, ya que los microorganismos generan efectos positivos como mejorar la disponibilidad de nutrientes o haciendo más biodisponibles los contaminantes. (Ullah et al., 2015).

Algunos procesos complementarios para la eficiencia son: a) Promoción directa de la fitorremediación en la que los microbios asociados a las plantas mejoran la translocación de metales (facilitan la fitoextracción) o reducen la movilidad y disponibilidad de metales pesados en la rizosfera (fitoestabilización) y b) Promoción indirecta de la fitorremediación en donde los microorganismos otorgan mayor tolerancia a metales pesados para las plantas, además de mejorar la biomasa vegetal (Rajkumar et al., 2012).

2.2.4. MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Para la degradación de metales pesados se requieren incluir diferentes procesos químicos como coagulación, flotación, floculación, ósmosis inversa, lavado de suelos, entre otros siendo métodos muy costosos, además que pueden tener productos nocivos (Ojuederie & Babalola, 2017), por esto se

recurre al uso de microorganismos los cuales son los principales mediadores de los ciclos bioquímicos, su actividad influye fuertemente en el transporte de metales en el ambiente al tener una diversidad enzimática extraordinaria logran interactuar con los metales de muchas formas por medio de reacciones de reducción, oxidación, metilación y alquilación, involucradas en el ciclo químico, biosorción, complejación y mineralización (Gadd, 2010).

Los microorganismos con capacidad de promover el crecimiento vegetal, son cepas aisladas de diversos ambientes, los cuales al ser inoculados de manera individual o en conjunto en plantas con potencial en fitorremediación presentan efectos positivos en los parámetros de crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas, otorgándole a la planta mayor resistencia frente a estrés abiótico, incluso en presencia de metales pesados mediante diferentes mecanismos que utilizan los microorganismos dentro de los cultivos (de-Bashana et al., 2012).

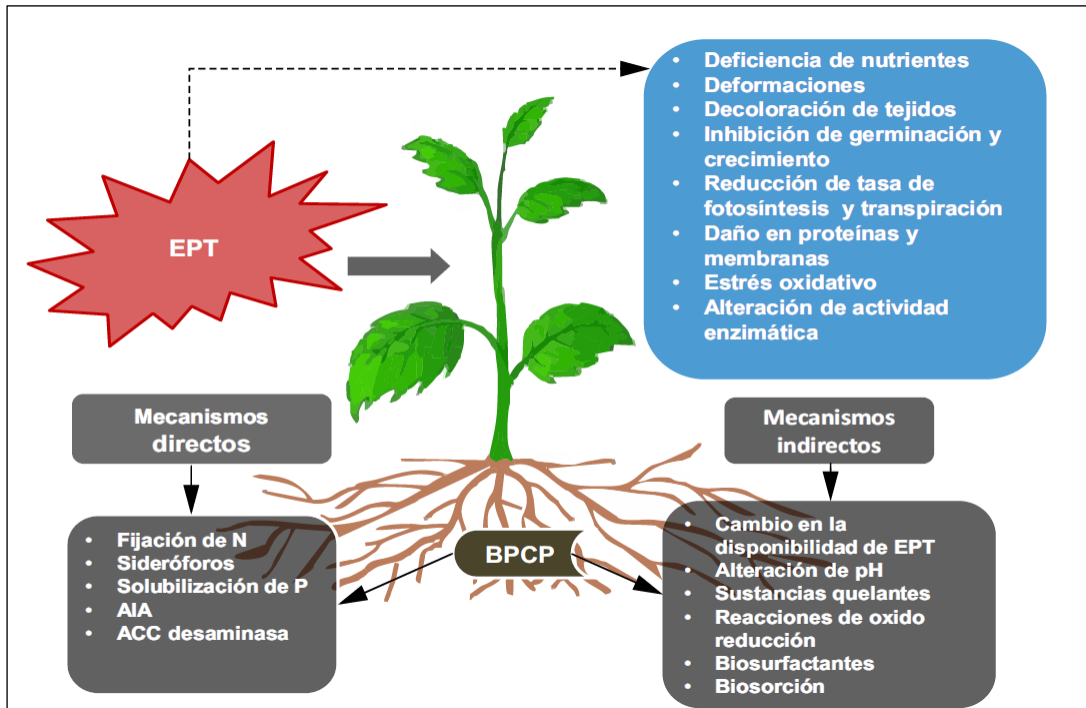
Los mecanismos de promoción de crecimiento vegetal pueden ser directos o indirectos (Figura 2).

2.2.4.1. MECANISMOS DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DIRECTOS

Los microorganismos involucrados en la nutrición y desarrollo vegetal, transformando macroelementos (formas no disponibles para las plantas) a formas sencillas, para así poder estar disponibles en la solución de suelo y ser absorbidos por las plantas, algunos de estos mecanismos son: La solubilización de fósforo, fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas, sideróforos, enzimas antioxidantes, todos ellos le permiten a la planta resistir condiciones de estrés abiótico al reducir los niveles de etileno y mejora la producción de la hormona del crecimiento vegetal (Glick B. R., 2012).

Figura 2

Mecanismos de acción de bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP) en suelos contaminados con elementos potencialmente tóxico



Nota. Adaptado de "Microorganisms aided phytoremediation: focus on plant growth-promoting bacteria" (p. 36), por Perea-Vélez et al, 2017, *Agroproductividad*, 10(4).

a. Producción de Ácido Indol Acético

El ácido indol-acético pertenece a las fitohormonas o también denominadas hormonas vegetales las cuales son sustancias producidas dentro de la planta que se encuentran presentes en el crecimiento y desarrollo de la planta, estas fitohormonas pueden ser las auxinas, dentro de ellas se encuentra el ácido indol-butírico, ácido cloroindol-acético, ácido fenilacético y el ácido indol acético (AIA) siendo esta última biosintetizada por algunas plantas superiores, esta se involucra en varios procesos de crecimiento de las plantas, propiciando un mayor desarrollo de la planta, por otro lado algunos microorganismos son capaces de sintetizar AIA lo cual ayuda a caracterizarlos como promotores de crecimiento vegetal o fitopatógenos (Kraft et al., 2007; Vega-Celedón et al., 2016). Un microorganismo promotor de crecimiento vegetal productor de AIA, ayuda a la planta con efectos positivos en el crecimiento de la raíz, en bajas cantidades alarga la raíz y en altas cantidades disminuye el tamaño de la raíz

principal, pero aumenta la cantidad de raíces laterales (Ojuederie & Babalola, 2017).

Los microorganismos que producen AIA principalmente con ayuda del triptófano, pueden intervenir e interactuar con las plantas hospederas en la regulación del AIA, las cuales a su vez pueden secretar el aminoácido triptófano que es precursor químico para la síntesis de esta auxina (Vega-Celedón et al., 2016). Sin embargo, el AIA puede sintetizarse con o sin triptófano, aunque este tema sigue en discusión (Dodd et al., 2010). Además de los efectos sobre la raíz, se ha encontrado que esta auxina aumenta la síntesis de etileno, el cual promueve que el fruto madure más rápido, una mejor respuesta a patógeno y al estrés abiótico (Dodd et al., 2010; Vega-Celedón et al., 2016). Es decir, para el caso de las plantas sometidas a condiciones de estrés por metales pesado o tóxicos para el crecimiento vegetal, los microorganismos productores de AIA son muy adecuados.

En caso de la respuesta a patógenos, se ha encontrado que el AIA rizosférico sintetizado tanto por las plantas como por las bacterias puede actuar como una señal para que los *Streptomyces* del suelo aumenten su producción de antibióticos, que son letales para los fitopatógenos fúngicos y bacterianos, inhibiendo así el crecimiento de los microbios competidores y protegiendo simultáneamente a las plantas de los fitopatógenos (Matsukawa et al., 2007).

b. Producción de sideróforos

Diversos factores ambientales varían la disponibilidad del Fe, como por ejemplo el aumento del pH baja la disponibilidad del Fe en suelos calcáreos, la materia orgánica aumenta la disponibilidad del metal al aumentar la comunidad microbiana descomponiendo la materia orgánica para liberar el Fe, textura, porosidad intervienen en la disponibilidad del hierro en el suelo, el cual es indirectamente uno de los factores de la producción de clorofila, transporte de oxígeno, fijación de nitrógeno, entre otros (Aguado-Santacruz et al., 2012).

Los sideróforos son moléculas que actúan como agentes quelantes con alta afinidad por el hierro en presencia de otros metales y transformarlo en Fe soluble, existen los sideróforos microbianos que son producidos por los microorganismos y los fitosideróforos, producidos por las plantas, pero estos últimos poseen una afinidad menor por el Fe por lo que no ocurre una quelación específica con este último (Aguado-Santacruz et al., 2012); el secuestro del hierro ocurre en respuesta a bajas cantidades de hierro en la rizósfera (Rajkumar et al., 2012).

Los sideróforos tienen la característica de ser compuestos de bajo peso molecular (400-1000 Daltons) con altas constantes de asociación para complejar el hierro, sin embargo, pueden formar complejos estables con otros metales: Pb, Cd, Al, Ga y Zn, se cree que los sideróforos que producen los microorganismos son considerados como promotores de crecimiento vegetal debido a que juegan un papel importante en la fitoextracción de metales pesados, debido a que los microorganismos extraen el Fe del suelo y se lo otorgan a la planta, es así que el mecanismo de producir sideróforos ayuda a la planta en la disminución o supresión de fitopatógenos sin que esta sea afectada, además colabora en el desarrollo y crecimiento de la planta hospedera otorgando mayor tolerancia frente a otros estreses (Aguado-Santacruz et al., 2012; Ojuederie & Babalola, 2017; Rajkumar et al., 2012).

c. Solubilización de fosfato

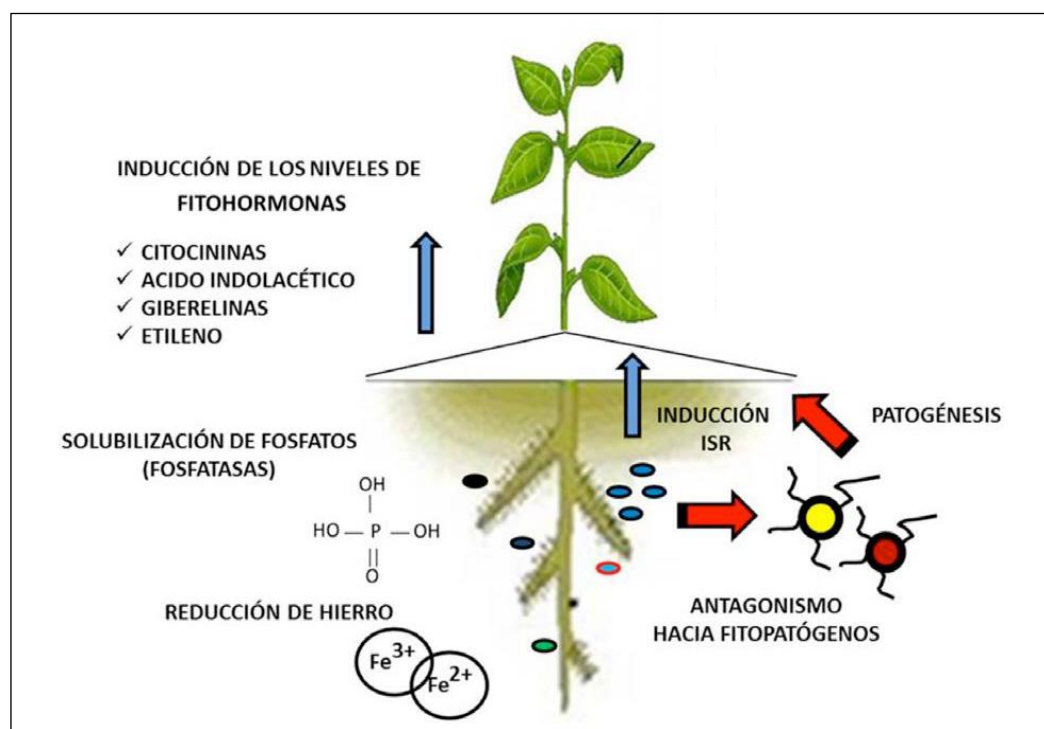
Es la capacidad que tiene un microorganismo de solubilizar fosfatos inorgánicos, inmóviles e insolubles que se encuentran en el suelo, en gran parte por el uso de fertilizantes fosfatados, y transformarlos a compuestos solubles móviles los cuales pueden ser absorbidos por las raíces de las plantas (Beltrán-Pineda, 2014).

Un nutriente como el fósforo es requerido por las plantas como macronutriente para su crecimiento y desarrollo, pero reacciona de forma natural con el Fe, Al y el Ca, lo que provoca su precipitación y, por lo tanto, no lo hace disponible para las plantas, debido a esto se estudia el comportamiento de microorganismos con capacidad de generar ácidos orgánicos e inorgánicos, que

faciliten la solubilización de fósforo hasta una forma de fácil asimilación por las plantas como ortofosfatos, nutriente necesario para el crecimiento de las plantas (Ojuederie & Babalola, 2017) para que el ortofosfato sea aprovechable por la planta es necesario que en el sustrato exista un pH de 6.5 ya que a esa concentración disminuye la precipitación de los fosfatos de aluminio y calcio (Beltrán-Pineda, 2014). La implementación de bacterias solubilizadoras de fosfato aumentan el crecimiento y rendimiento de muchos cultivos como es en el caso del trigo, maíz y camote (Zahid et al., 2015), debido a que las bacterias poseen mayor solubilización de fosfatos que los hongos, la mayoría solubiliza fosfatos de calcio y pocos solubilizan fosfatos de aluminio o hierro (Beltrán-Pineda, 2014).

Figura 3

Mecanismos directos de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal al ser inoculadas en la planta



Nota. Adaptado de “Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*” (p. 36), por Rojas-Solís et al, 2013, *Biológicas*, 15(2).

2.2.4.2. MECANISMOS DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL INDIRECTOS

Están principalmente involucrados con la inhibición de sustancias nocivas como metales pesados y pesticidas, y el biocontrol de los efectos provocados por el ataque de patógenos para la planta (Glick B. R., 2012).

Los microorganismos antagonistas promueven el crecimiento vegetal evitando la colonización y el ataque de patógenos ya sea por algunos mecanismos como:

- a) Sintetizando enzimas hidrolíticas (quitinasas, glucanasas, proteasas, lipasas) capaces de lisar las células de hongos (*Phytium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Clavibacter michiganensis*) o bacterias fitopatógenas (*Erwinia amylovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae*).
- b) Compitiendo por nutrientes, nichos ecológicos y sitios de colonización sobre la superficie de la raíz.
- c) Regulando los niveles de etileno, que se produce por el estrés causado por la infección parasítica, a través de la síntesis de la enzima ACC desaminasa.
- d) Produciendo sustancias antimicrobianas como sideróforos y antibióticos de amplia dispersión (Glick B. R., 2012).

2.2.5. ANÁLISIS METAGENÓMICO MICROBIANO

El enfoque metagenómico es un campo de investigación el cual combina la genética molecular, la ecología microbiana y el análisis de datos, este método se enfoca en la identificación bacteriana que permite detectar la totalidad de los microorganismos en un consorcio microbiano incluso de las especies que no pueden aislarse (Sudarikov et al., 2017). Además, que es útil para lograr comprender las características únicas del consorcio microbiano extraído de un suelo directamente y aquellos tolerantes o resistentes a metales pesados (Feng et al., 2018).

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- 2.3.1. ARNr 16S:** Es un polirribonucleótido con regiones altamente conservadas que permiten establecer la relación taxonómica entre familias, clases y filos (Rodicio y Mendoza, 2004).
- 2.3.2. Bioensayo:** Es el estudio que ayuda a obtener respuestas fisiológicas de organismos seleccionados que se ponen en contacto con concentraciones o proporciones crecientes de las muestras obtenidas en la zona de estudio, de manera experimental (Contero y Felicita, 2006).
- 2.3.3. Biodisponibilidad:** Característica de las sustancias tóxicas que indica facilidad de incorporarse a los seres vivos mediante procesos o mecanismos de inhalación, ingesta o absorción y que están influenciados por parámetros como la exposición, las características del receptor del contaminante (Ministerio del Ambiente, 2015).
- 2.3.4. Inoculación:** Es la incorporación de los microorganismos en el medio donde se encuentra la planta, con ciertos cuidados que no limiten la viabilidad (Restrepo, 2007).
- 2.3.5. Medio de cultivo:** Son sustancias nutritivas que en concentraciones óptimas de preparación permiten un adecuado crecimiento de microorganismos (Reynoso et al., 2015).
- 2.3.6. Suelo:** Material no consolidado compuesto por materia inorgánica y orgánica, aire, agua, organismos vivos, se extiende desde la capa superficial hasta distintos niveles de profundidad (MINAM, 2017).
- 2.3.7. Rizósfera:** Considerada como la parte del suelo que ocupa un espacio cercano a las raíces de las plantas, comprendida entre 1 y 3 mm desde la superficie de la raíz hasta el interior del suelo, es el ecosistema esencial para diversos microorganismos (Márquez, 2021; Muñoz-Silva et al., 2019)
- 2.3.8. Microorganismos tolerantes a metales pesados:** Es la capacidad de resistencia que poseen los microorganismos debido a un conjunto de mecanismos que contribuyen en la defensa de la célula frente a metales potencialmente dañinos (Muñoz-Silva et al., 2019).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Tipo aplicativo porque se realizarán tratamientos para estudiar los efectos producidos por metales pesados en las plantas con y sin inóculos de consorcios y así evaluar el potencial de estos últimos.

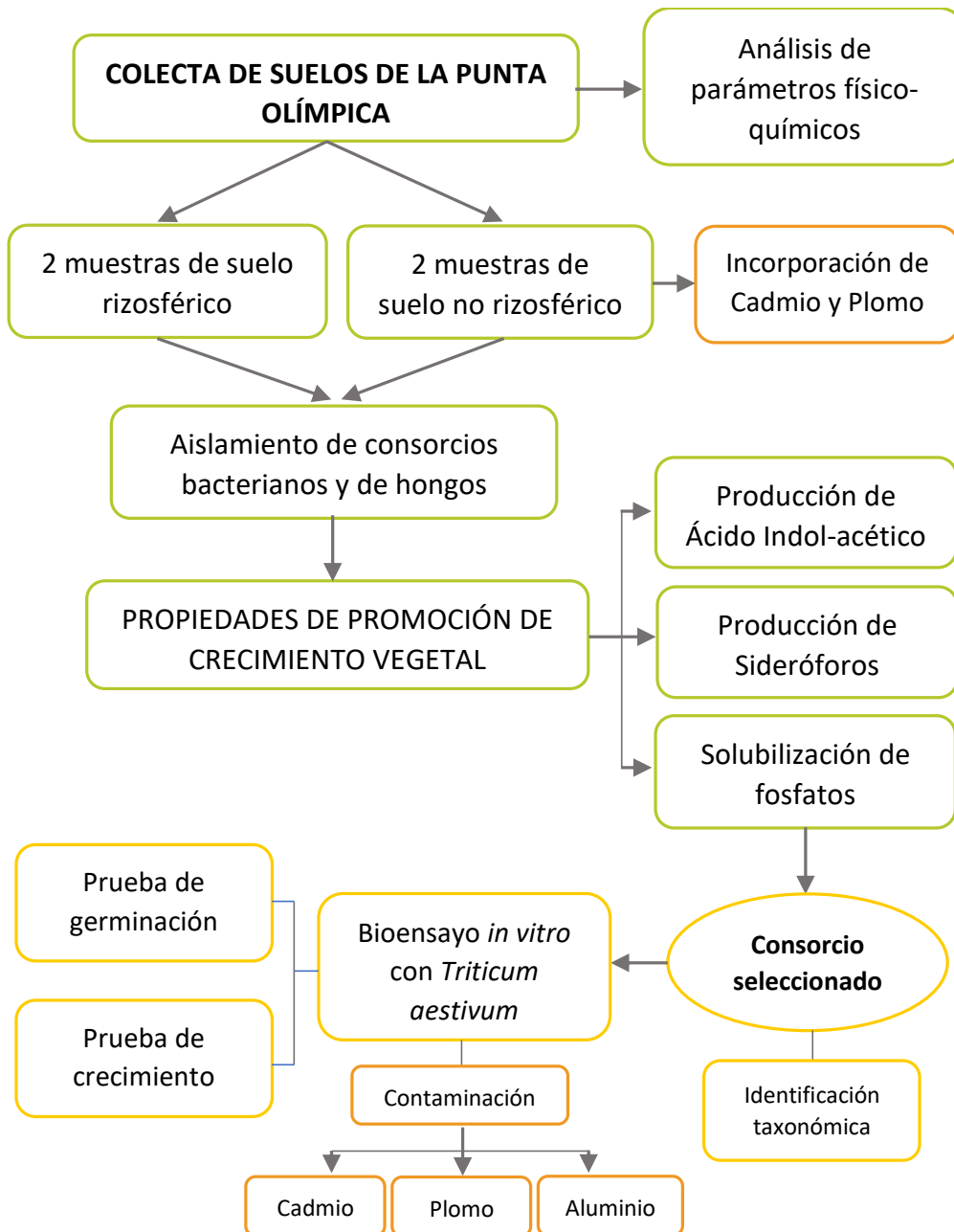
De enfoque cuantitativo, debido a que se trabajó con aspectos observables y medibles.

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de la investigación fue experimental ya que se evaluó el uso potencial en fitorremediación de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados.

Figura 4

Resumen de la metodología de la investigación



3.3. MÉTODOS O TÉCNICAS

3.3.1. Colecta de suelos contaminados por metales pesados de la Punta Olímpica para aislar consorcios microbianos y caracterizar fisicoquímicamente el suelo.

- Se colectó dos tipos de muestras de suelo del sector de la Punta Olímpica del distrito de Shilla (Quebrada Ulta), de donde se obtuvieron cuatro muestras mediante observación de cuatro puntos de muestreo siendo dos muestras con rizósfera y dos muestras sin rizósfera, tomando como indicadores el color del suelo debido a la presencia de óxidos de hierro y la cobertura vegetal, los cuales fueron denominados como: M1, M2, M3 y M4 (ver ANEXO 1). Estas muestras fueron trasladadas en bolsas estériles y herméticamente cerradas hacia el Centro de Investigación de Biodiversidad y Recursos Genéticos de Ancash (CIByRGA) para el aislamiento de los consorcios microbianos y una parte de estas para el análisis de fertilidad y de metales pesados.

El muestreo se realizó con el permiso de la autoridad pertinente, en este caso Parque Nacional Huascarán, cumpliendo las normas éticas y políticas del Parque.

Se realizaron dos tipos de procedimientos para el aislamiento de microorganismos:

- El primero consistió en el aislamiento de los microorganismos de suelos de la rizósfera según Tamariz-Ángeles et al., (2014); se diluyó 1 g de cada muestra de suelo en 9 ml de agua salina estéril (NaCl al 0.85%), posteriormente se realizó diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-5} para las bacterias y 10^{-1} y 10^{-2} para los hongos. De las diluciones 10^{-3} hasta 10^{-5} se tomaron 200 μ l de muestra para las siembras por triplicado para las bacterias y para los hongos ambas diluciones.

Para aislar bacterias se empleó Agar Tripticasa de Soya (TSA) suplementado con 100 μ l/ml de Fluconazol. La incubación se realizó por 48 horas a 24°C.

Para aislar hongos, se utilizó Agar Sabouraud (SA) suplementado con 50 µl/ml de Estreptomina y Tetraciclina, incubado 7 días a 24°C.

- Para el segundo procedimiento se utilizó la metodología modificada por Jiang et al., (2008), el cual consistió en utilizar 90ml de Caldo de Tripticasa de Soya (TSB) para aislar bacterias y se añadieron 10 g de cada muestra de suelo, suplementado con 100 µl/ml de Fluconazol.

Para aislar hongos se utilizó Caldo Sabouraud (SB), suplementado con 50 µl/ml de Estreptomina y Tetraciclina, utilizando el mismo procedimiento que para las bacterias.

En ambos casos, los matraces se incubaron por 12 días a 15°C en agitación a 150 rpm. Este procedimiento se repitió 3 veces, en este último subcultivo se añadieron los metales Cd (0.2 mM) y Pb (1mM) para su estabilización se repitió el mismo procedimiento anteriormente descrito hasta llegar al quinto subcultivo de ambos microorganismos, teniendo en cuenta a Muñoz-Silva et al. (2019).

3.3.2. Procedimientos para el análisis de la producción de ácido indol acético, sideróforos y solubilización de fosfatos en el consorcio microbiano aislado.

• Producción de Ácido Indolacético (AIA)

a. Del consorcio de bacterias

Se inoculó 70 µl con 0.1 de densidad óptica (λ 620 nm) de cada consorcio bacteriano en 7 ml de TSB suplementado con 2 mg/ml de L-Tryptophan (Jiang et al., 2008), los cuales fueron incubados a 15°C y 24°C, se extrajeron muestras a 24, 48 y 72 horas. Las muestras se centrifugaron a 13000 rpm durante 2 minutos para separar las bacterias del sobrenadante, se colocó en los pocillos de las microplacas 100 µL del sobrenadante con 100 µL de reactivo Salkowsky (10ml 35% HClO₄ + 200 µL FeCl₃) (Loper & Schroth, 1986), para finalmente incubarlo en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente.

b. Del consorcio de hongos

Se procedió según Kumla & Suwannarach (2014), se inocularon cuadraditos de micelio de 5mm por lado aproximadamente, de cada consorcio de hongos en 10 ml de Caldo de Papa Dextrosa (PDB) suplementado con 2 mg/ml de L-Tryptophan. Se incubaron a 15°C y 24°C, se extrajeron muestras a 6, 9, 12 y 15 días. Las muestras se centrifugaron a 13000 rpm durante 2 minutos para separar el sobrenadante del micelio. En microplacas se vertieron 100 µL del sobrenadante con 100 µL de reactivo Salkowsky (10ml 35% HClO₄ + 200 µL FeCl₃) (Loper & Schroth, 1986) y se incubó en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente.

Para ambos casos, la presencia de color rosa o fucsia indicó la producción de AIA.

• **Evaluación de capacidad de síntesis de sideróforos**

Para este método semicuantitativo, se utilizó el método descrito por Hu & Xu (2011), en el cual se preparó inóculo fresco de 24 horas de incubación para los consorcios bacterianos y 7 días para los consorcios de hongos.

a. Del consorcio de bacterias

En un microtubo de 2 ml se agregó 1ml de TSB con 100 µL de cultivo fresco y se dejó incubando por 5 días a temperaturas de 15°C y 24°C, se realizaron 4 réplicas por cada consorcio. Se separó el sobrenadante de cada microtubo por centrifugación a 13400 rpm durante 3 minutos, posteriormente se añadió 100 µL del sobrenadante con 100 µL de solución CAS-Fe en una microplaca. Luego de 20 minutos de incubación en oscuridad se tomó la densidad óptica a 630 nm en lector de microplaca.

b. Del consorcio de hongos

En un microtubo de 2 ml se agregó 1ml de SB con 100 µL de cultivo fresco y se dejó incubando por 5 días a temperaturas de 15°C y 24°C, se

realizaron 4 réplicas por cada consorcio. Se procedió de igual forma que con los consorcios de bacterias.

La producción de unidades sideróforas se obtuvo mediante la fórmula:

$$SU(\%) = \frac{(Ar - As) \times 100}{Ar}$$

Donde:

- SU: Unidades sideróforas.
- Ar: absorbancia de la referencia (solución CAS y caldo no inoculado)
- As: absorbancia de la muestra (solución CAS y sobrenadante libre de células de la muestra) (Machuca & Milagres, 2003).

• Evaluación de solubilización de fosfatos

Se realizó la evaluación de solubilización de fosfatos de calcio en bacterias y hongos de acuerdo con la metodología descrita por (Nauyital, 1999). Se utilizó el medio NBRIP cuya composición es de (% p/v): 1% glucosa, 0.5% Ca₃(PO₄)₂, 0.5% MgCl₂·6H₂O, 0.025% MgSO₄·7H₂O, 0.02 % KCl y 0.01 % (NH₄)₂SO₄ a pH 7.

a. Del consorcio de bacterias

Se prepararon inóculos de cada consorcio bacteriano con 0.1 de densidad óptica a 620 nm de longitud de onda. Posteriormente se inocularon 2 µl sobre discos de papel filtro estéril previamente colocados en placas Petri con medio NBRIP, se realizó la siembra por duplicado con un tiempo de incubación de 72 horas a 15°C y 24°C (Montañez et al., 2012).

b. Del consorcio de hongos

Se preparó una solución de esporas para cada consorcio de hongos utilizando. De los cuales se extrajeron 2 µl de cada uno y fueron inoculados en discos de papel filtro de 5mm en placas Petri con medio NBRIP, cada una con duplicado con tiempo de incubación de 7 días a 15°C y 24°C (Montañez et al., 2012).

Para ambos casos, se determinó la capacidad de solubilización de fosfatos de calcio por el diámetro del halo transparente formado alrededor y el diámetro de la colonia del consorcio aplicando la siguiente fórmula:

$$IPS = \frac{A}{B}$$

Donde:

- A: Diámetro de los halos
- B: Diámetro de la colonia (Montañez et al., 2012)

3.3.3. Bioensayo para medir el efecto del consorcio microbiano sobre *Triticum aestivum* bajo condiciones de estrés por metales pesados.

a. Efecto de la inoculación del consorcio microbiano en la germinación de *Triticum aestivum* “Trigo”

- Se determinó el porcentaje de germinación a 24, 48 y 72 horas (Ulloa-Muñoz et al., 2020) a 15°C y 24°C suplementado con Pb (2 mM), Cd (1 mM) y Al (2.5 mM); y un blanco para cada tratamiento, cada uno con tres repeticiones.

b. Efecto de la inoculación del consorcio microbiano en el crecimiento *in vitro* en Trigo

- Las semillas de trigo fueron esterilizadas con etanol 96° por un minuto, luego posteriormente se hizo un lavado con hipoclorito de sodio (4%) durante 4 minutos, luego se lavaron 6 veces con agua destilada estéril por 3 minutos en cada lavada (Ulloa-Muñoz et al., 2020). Las semillas fueron germinadas en Agar agua por 48 horas a 24°C.
- Para evaluar los efectos de la inoculación del consorcio microbiano sobre el crecimiento de raíces y brotes, las semillas germinadas de trigo se pasaron a medio Murashigue y Sckooj a la mitad de sales (2.2 g/l), pH 5.5 y suplementado con Pb (2 mM), Cd (1 mM) y Al (2.5 mM), cada uno con tres repeticiones (Yahaghi et al., 2019). Cada unidad experimental (repetición) tuvo 8 semillas germinadas y fueron cultivadas con fotoperiodo de 16 horas

luz, a temperaturas de 15°C y 24°C respectivamente. Las plantas de trigo se recolectaron 15 días después de su crecimiento en las condiciones *in vitro*, evaluándose el número de raíces, longitud de raíces, tamaño de la parte aérea y número de hojas.

3.3.4. Identificación de la diversidad taxonómica de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica con mejores resultados.

Se extrajeron los ADN de los consorcios de microorganismos aislados con Genomic DNA Purification Kit – Thermo Fisher Scientific, de acuerdo al protocolo del fabricante. Posteriormente se realizó el análisis metagenómico a las muestras de ADN al laboratorio de Micología y Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.4.1. POBLACIÓN

La población estuvo constituida por todos los microorganismos de los suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica, ubicada en la Provincia de Carhuaz en la Región Ancash.

3.4.2. MUESTRA

La muestra de la investigación fueron los consorcios aislados de los suelos contaminados con metales pesados y cultivables de cuatro suelos colectados de la Punta Olímpica.

3.5. INSTRUMENTOS VALIDADOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

No aplica porque no se realizaron encuestas.

La información fue recopilada en cuadros de Excel utilizados como un registro de datos y panel fotográfico, con apoyo de la referencia bibliográfica.

3.6. PLAN DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN

- Para todas las pruebas (producción de AIA, sideróforos, solubilización de fosfatos, bioensayo *in vitro* con trigo para la evaluación de germinación y crecimiento de la planta de trigo con diferentes tratamientos) se realizaron con 3 repeticiones y se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA).
- Se calculó el promedio y las desviaciones estándar.
- Se aplicó la prueba ANOVA y Tukey con un nivel de confianza de 95% ($p \leq 0.05$).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Consorcios microbianos aislados y caracterizados fisicoquímicamente de los suelos colectados de la Punta Olímpica

Tabla 2

Coordenadas de los puntos de muestreo de la Punta Olímpica

Nombre	Latitud sur	Longitud oeste	Altitud (m s.n.m)
Suelo sin plantas de color marrón (M1)	-9.1313	-77.5108	4913
Suelo negro sin plantas (M2)	-9.1309	-77.5109	4915
Suelo con rizosfera (con plantas) (M3)	-9.1303	-77.5108	4898
Suelo con rizosfera (con plantas) (M4)	-9.1284	-77.5121	4790

Tabla 3*Resultados de los análisis de fertilidad*

Parámetro		M1	M2	M3	M4
Textura (%)	Arena	71	95	71	57
	Limo	21	1	19	37
	Arcilla	8	4	10	6
Clase textural		Franco arenoso	Arena	Franco arenoso	Franco arenoso
pH		3.83	4.81	3.95	3.57
M.O.(%)		1.612	0.716	1.81	2.236
Nt. (%)		0.081	0.035	0.091	0.112
P(ppm)		7	13	17	2
K(ppm)		79	84	70	72
C.E.(Ds/m.)		0.127	0.005	0.032	0.036

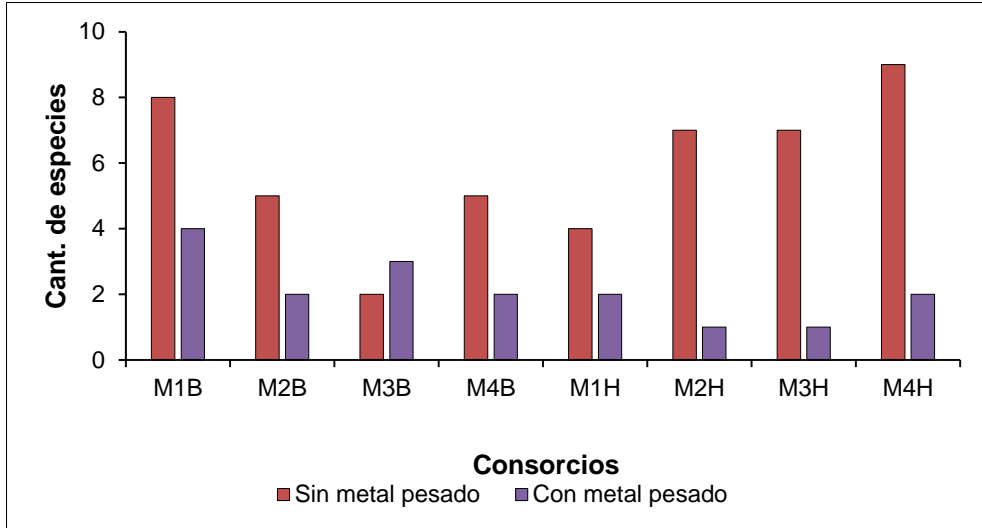
Tabla 4*Resultados de los análisis de metales pesados*

Parámetro (mg/kg PS)	M1	M2	M3	M4	ECA para suelo
Al total	667.66	674.33	678.3	14750	-
As total	19.35	13.46	9.23	16.78	50
Cd total	7.42	44.96	<0.50	250	1.4
Cu total	64.29	24.98	14.96	2000	-
Cr total	2473	29.97	34.91	1750	-
Fe total	2556.87	2801.99	2558.6	125000	-
Ni total	934.72	109.84	458.85	5000	-
Pb total	1271.02	974.03	733.04	10250	70
Zn total	296.74	234.77	254.36	7000	-

Nota. (-): No presenta valor dentro de la normativa para suelos agrícolas

Figura 5

Comparación de la cantidad de microorganismos de los consorcios sin metal pesado y con metal pesado



4.2. Producción de ácido indolacético, sideróforos, y solubilización de fosfatos en el consorcio microbiano aislado.

a. Producción de AIA en consorcios de bacterias

Figura 6

Producción de AIA por consorcio de bacterias en 24, 48 y 72 horas a 15°C

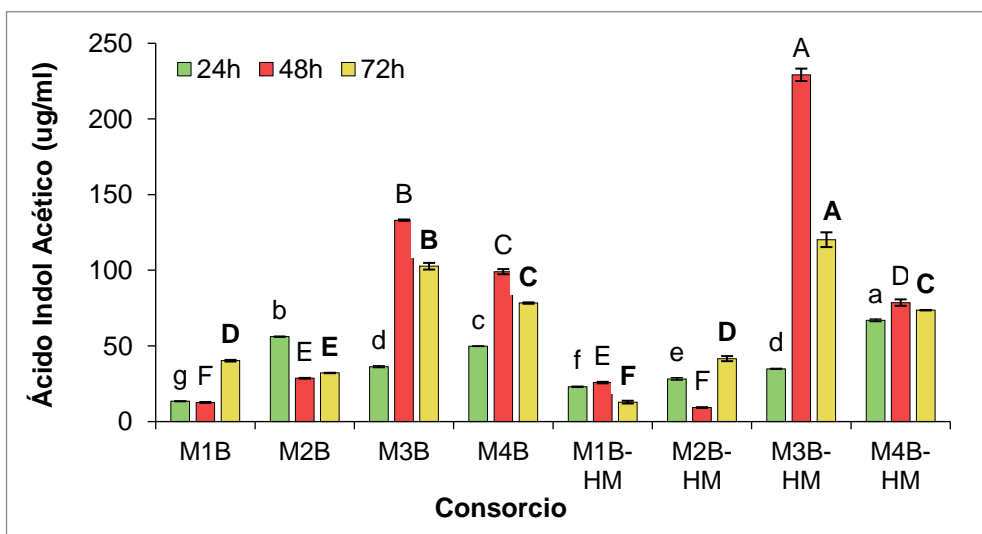
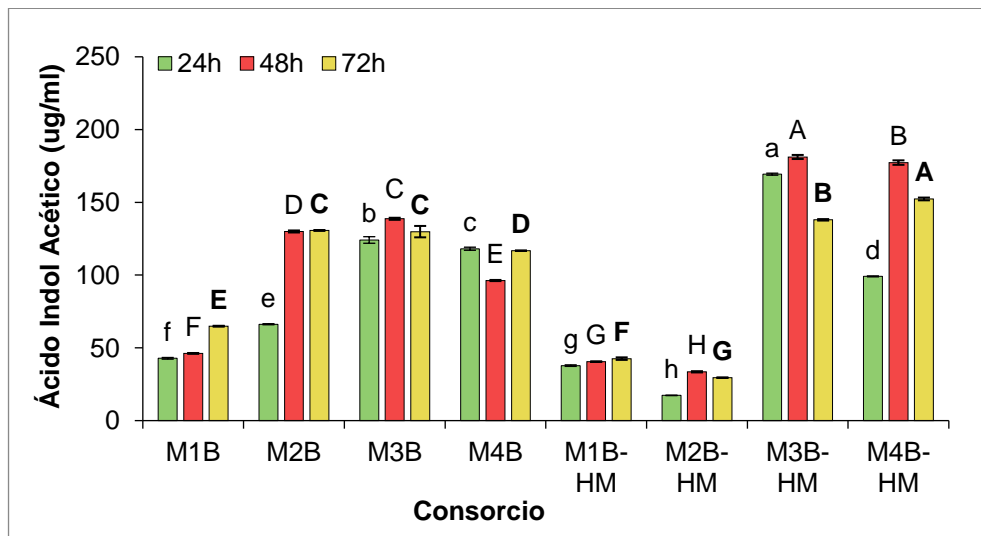


Figura 7

Producción de AIA por consorcio de bacterias en 24, 48 y 72 horas a 24°C



En las figuras 5 y 6, cada barra representa el promedio de la producción AIA en cada consorcio bacteriano sin metal y con metal pesado (HM) con un nivel de significancia de 95%, diferenciadas por las letras minúsculas para 24 horas, letras mayúsculas para 48 y 72 horas. Para la temperatura a 15°C los mejores consorcios en producción de AIA para 24, 48 y 72 horas fueron las muestras M3B-HM y M4B-HM. Para la prueba a 24°C a 24, 48 horas, la mejor muestra en producción de AIA fue la muestra M3B-HM y para 72 horas, M4B-HM.

b. Producción de AIA en consorcios de hongos

Figura 8

Producción de AIA por consorcio de hongos en 6, 9, 12 y 15 días a 15°C

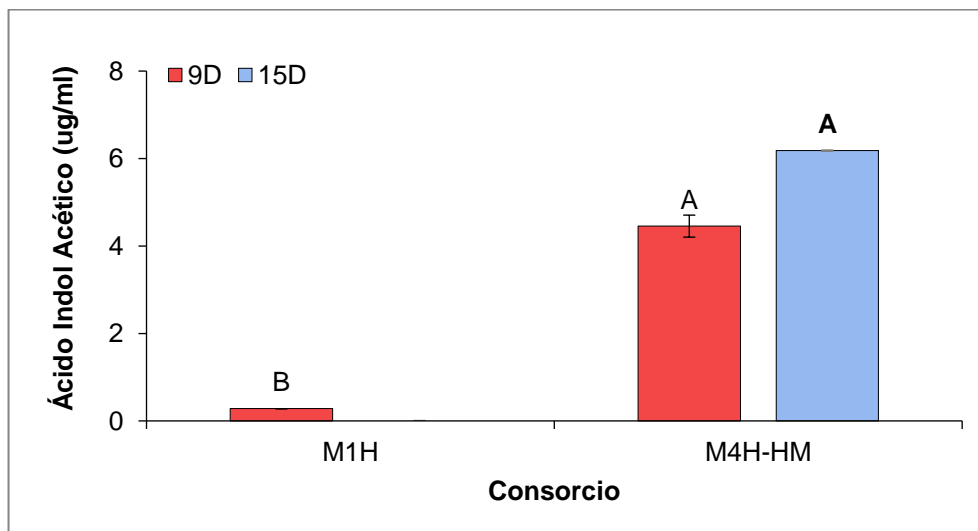
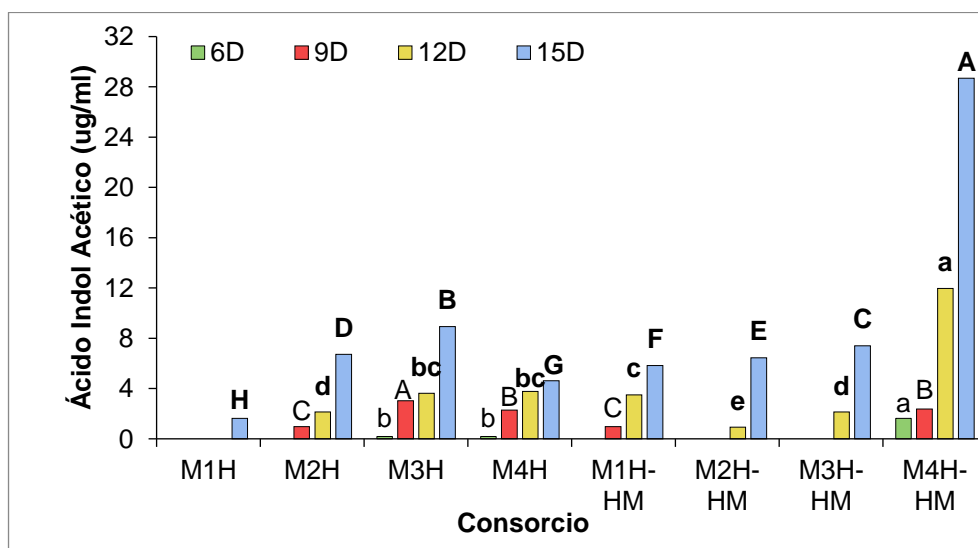


Figura 9

Producción de AIA por consorcio de hongos en 6, 9, 12 y 15 días a 24°C



En las figuras 7 y 8, cada barra representa el promedio de la producción AIA en cada consorcio de hongos sin metal y con metal pesado (HM) con un nivel de significancia de 95% diferenciadas por las letras minúsculas para 24 horas, letras mayúsculas para 48 y 72 horas. En la evaluación de producción a 15°C, no todos los consorcios produjeron AIA, excepto M1H y M4H-HM que,

tuvieron producción a 9 y 15 días. Para 24°C el consorcio M4H-HM tuvo mayor producción a 6, 12 y 15 días.

c. Producción de Sideróforos en los consorcios microbianos

Figura 10

Producción de unidades sideróforas en consorcio de bacterias a 15°C y 24°C

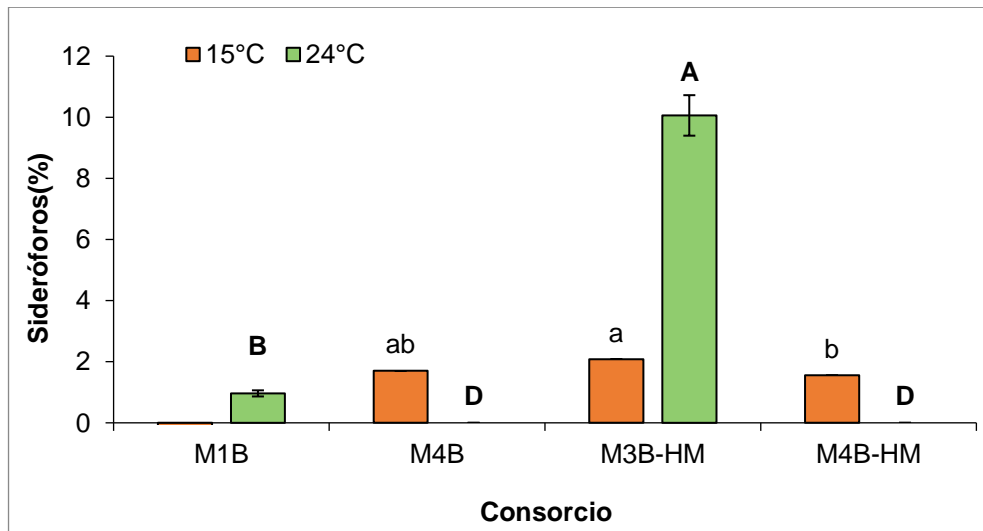
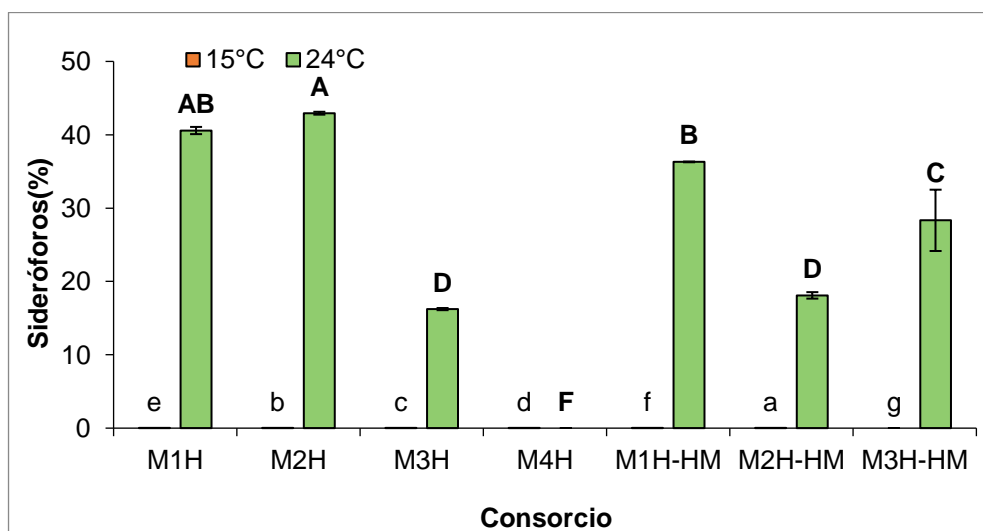


Figura 11

Producción de unidades sideróforas en consorcio de hongos a 15°C y 24°C



En las figuras 9 y 10 cada barra representa el promedio de la producción sideróforos en cada consorcio de bacterias y de hongos sin metal

y con metal pesado (HM), respectivamente con un nivel de significancia de 95%.

Para los consorcios de bacterias solo 3 de ellos tuvieron producción de sideróforos a 15°C, donde el mejor consorcio fue M3B-HM, al igual que a 24°C. Por otro lado, la producción de sideróforos en los consorcios de hongos a 15°C fue mínima en comparación con los resultados a 24°C, donde todos los consorcios de hongos produjeron sideróforos, siendo M2H el mejor productor para dicha temperatura.

d. Índice de Solubilización de Fosfatos en los consorcios microbianos

Figura 12

Índice de Solubilización de Fosfato (IFS) en consorcio de bacterias a 15°C y 24°C

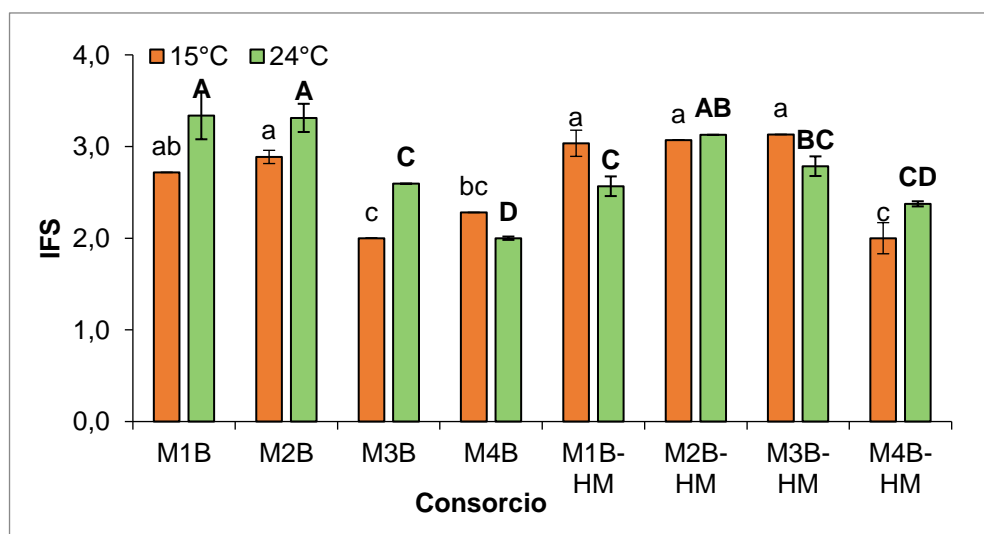
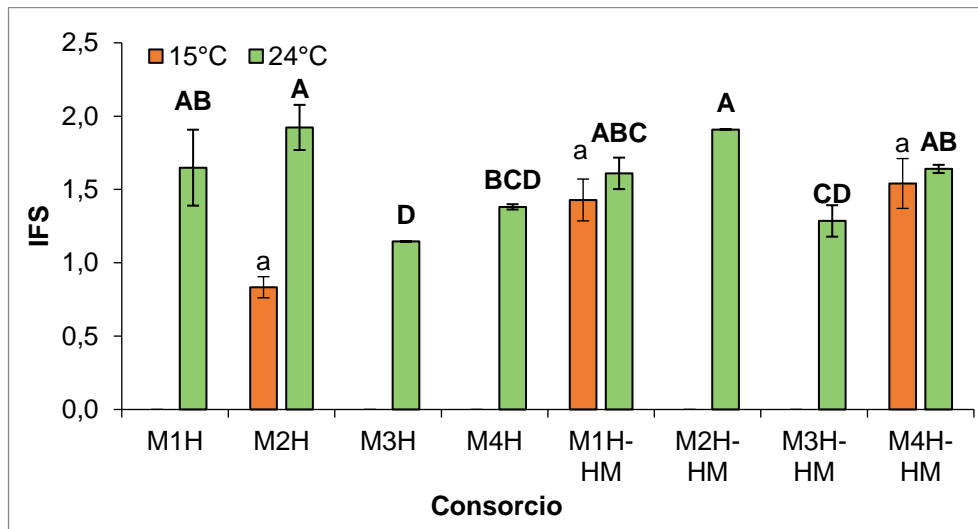


Figura 13

Índice de Solubilización de Fosfato (IFS) en consorcio de hongos a 15°C y 24°C



En las figuras 11 y 12 cada barra representa el promedio del Índice de Solubilización de Fosfatos en cada consorcio de bacterias y de hongos sin metal y con metal pesado (HM), respectivamente con un nivel de significancia de 95%.

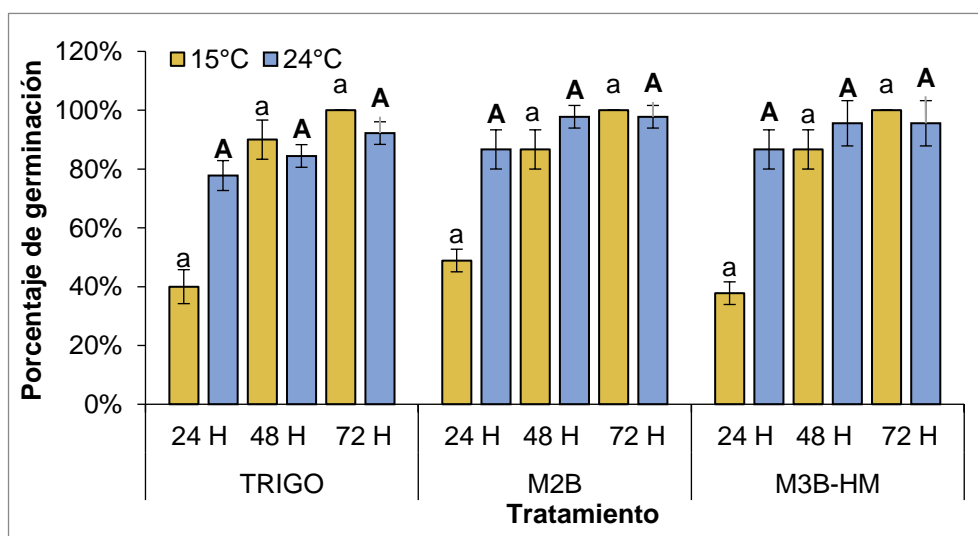
El mejor resultado de IFS para los consorcios de bacterias a 15°C fueron M2B, M1B-HM, M2B-HM y M3B-HM y a 24°C, fue M1B y M2B. Para el consorcio de hongos, los mejores resultados de IFS se observaron en los consorcios M2H, M1H-HM y M4H-HM para la temperatura de 15°C y a 24°C, fueron M2H y M2H-HM.

4.3. Bioensayo para medir el efecto del consorcio microbiano sobre *Triticum aestivum* bajo condiciones de estrés por metales pesados.

a. Efecto de la inoculación del consorcio microbiano en la germinación de *Triticum aestivum* “Trigo”

Figura 14

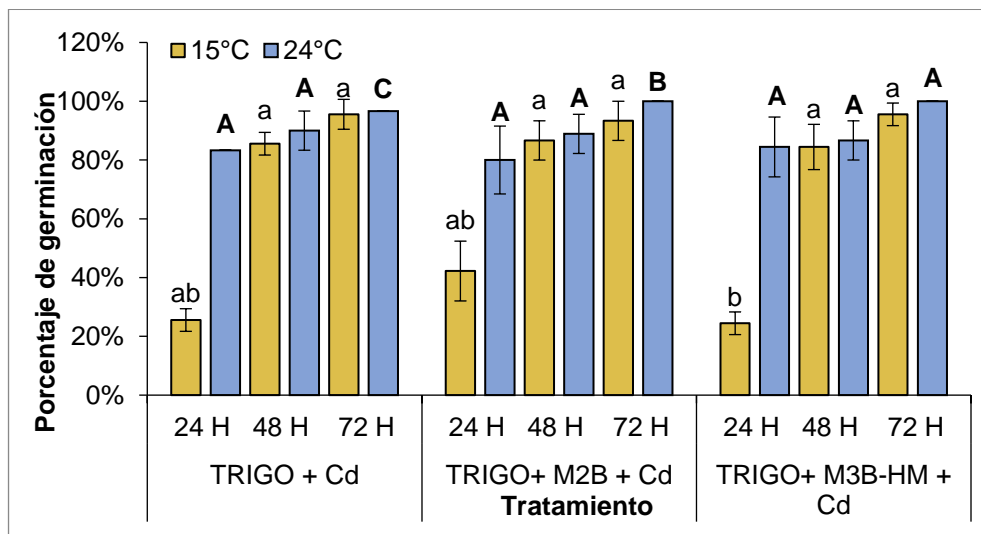
Germinación del trigo en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C



En la prueba de germinación de trigo sin estrés por metales pesados, se pudo observar que a 24 horas hubo un mayor porcentaje a 24°C que a 15°C, aun así, no hubo diferencia significativa con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Figura 15

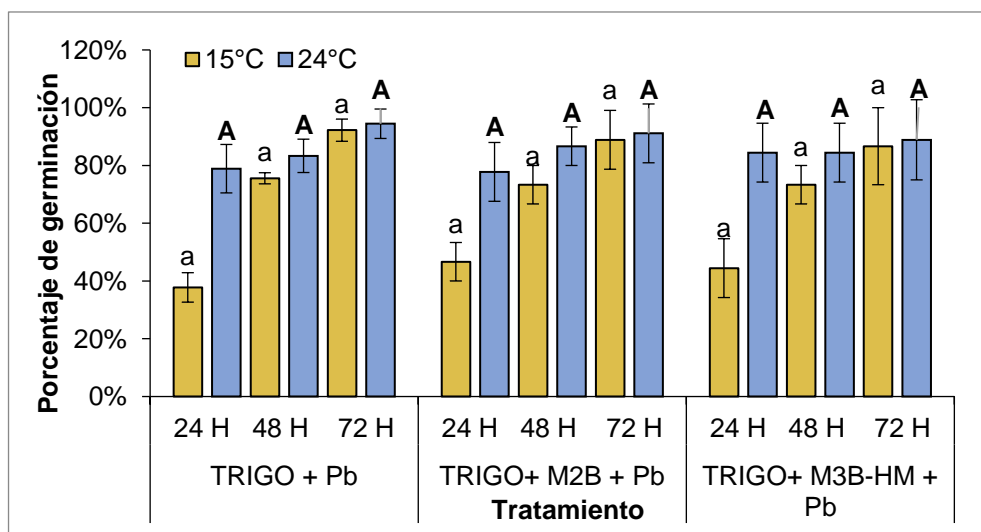
Germinación del trigo con Cd en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C



En la prueba de germinación de trigo con estrés por cadmio, se pudo observar que los tratamientos de Trigo + Cd y Trigo + M2B + Cd tuvieron mejor porcentaje a 24 °C que a 15°C para 24 horas. Por otra parte, a 24°C el mejor tratamiento fue Trigo + M3B-HM + Cd, para 72 horas.

Figura 16

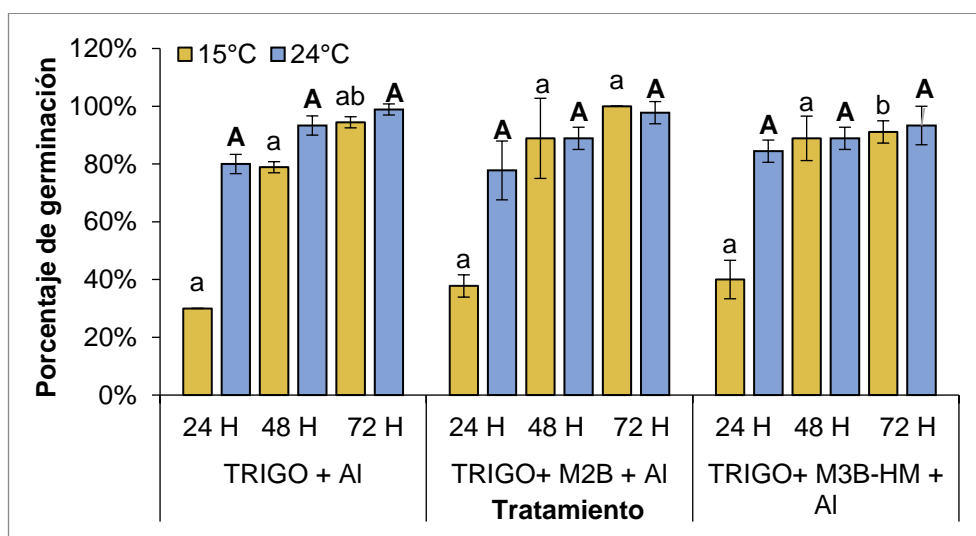
Germinación del trigo con Pb en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C



En la prueba de germinación de trigo con estrés por plomo, se pudo observar que a 24 horas hubo un mayor porcentaje a 24°C que a 15°C, no encontrándose una significancia a 15°C y 24°C en los análisis por separado.

Figura 17

Germinación del trigo con Al en 24, 48 y 72 horas a 15°C y 24°C



En la prueba de germinación de trigo con estrés por aluminio, se observó que a 15°C el tratamiento Trigo + M2B + Al alcanzó el 100% de semillas germinadas a 72 horas. En cuanto a la incubación a 24°C, no hubo diferencia significativa.

b. Efecto de la inoculación del consorcio microbiano en el crecimiento *in vitro* en Trigo

Tabla 5

Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo a 15°C

Tratamiento a 15°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO	6 ± 0.06b	12 ± 0.72a	21 ± 0.2a	3 ± 0.03a
M2B	7 ± 0.38a	4 ± 0.11b	19 ± 0.24b	3 ± 0.25a
M3B-HM	6 ± 0b	5 ± 0.34b	17 ± 0.9c	3 ± 0.06a

Para la evaluación del número de raíces sin estrés por metales pesados, el tratamiento M2B tuvo mayor ponderado para 15°C.

Tabla 6*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo a 24°C*

Tratamiento a 24°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO	5 ± 0.25a	16 ± 0.05a	23 ± 0.25a	3 ± 0.09a
M2B	7 ± 1.44a	5 ± 0.09c	17 ± 2.33b	2 ± 0.19b
M3B-HM	6 ± 0.25a	8 ± 0.53b	23 ± 0.51a	3 ± 0.06a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 7*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Cd a 15°C*

Tratamiento a 15°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + Cd	5 ± 0.28a	4 ± 0.04a	11 ± 0.25a	2 ± 0.03a
TRIGO+ M2B + Cd	5 ± 0.06a	2 ± 0.03c	10 ± 0.38ab	2 ± 0.19a
TRIGO+ M3B-HM + Cd	5 ± 0.31a	2 ± 0.24b	10 ± 0.5b	2 ± 0.13a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 8*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Cd a 24°C*

Tratamiento a 24°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + Cd	5 ± 0.13ab	3 ± 0.35a	9 ± 0.31ab	2 ± 0ab
TRIGO+ M2B + Cd	5 ± 0.25b	2 ± 0.08b	8 ± 0.58b	2 ± 0.25a
TRIGO+ M3B- HM + Cd	5 ± 0.13b	3 ± 0.56a	9 ± 0.17a	2 ± 0.06b

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 9*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Pb a 15°C*

Tratamiento a 15°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + Pb	6 ± 0.22a	8 ± 0.12a	17 ± 0.3a	2 ± 0.03b
TRIGO+ M2B + Pb	7 ± 0.56a	4 ± 0.49c	16 ± 1.91a	3 ± 0.13a
TRIGO+ M3B- HM + Pb	6 ± 0.13a	6 ± 0.03b	16 ± 0.16a	2 ± 0.19b

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 10*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Pb a 24°C*

Tratamiento a 24°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + Pb	6 ± 0.09ab	8 ± 1.24a	19 ± 0.72a	3 ± 0.03a
TRIGO+ M2B + Pb	7 ± 0.94a	3 ± 0.29b	13 ± 3.26b	2 ± 0.56a
TRIGO+ M3B- HM + Pb	5 ± 0.13b	7 ± 0.33a	19 ± 0.06a	3 ± 0.06a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 11*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con Al a 15°C*

Tratamiento a 15°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + Al	6 ± 0.09a	8 ± 0.55a	16 ± 0.1a	2 ± 0.09a
TRIGO+ M2B + Al	4 ± 0.25b	3 ± 0.35c	13 ± 0.58b	2 ± 0.21a
TRIGO+ M3B- HM + Al	6 ± 0.31a	6 ± 0.21b	12 ± 1.69b	2 ± 0.19a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 12*Efecto del consorcio microbiano en el crecimiento del trigo con AI a 24°C*

Tratamiento a 24°C	N° de Raíces	Longitud de Raíces	Longitud de parte aérea	N° de Hojas
TRIGO + AI	6 ± 0b	8 ± 0.44a	18 ± 2.58a	3 ± 0.19a
TRIGO+ M2B + AI	7 ± 0.44a	6 ± 0.68b	15 ± 0.88a	3 ± 0.13a
TRIGO+ M3B- HM + AI	6 ± 0.25b	8 ± 0.89a	17 ± 1.17a	3 ± 0.19a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 13*Efecto del consorcio microbiano en la biomasa fresca y materia seca 15°C*

Tratamiento a 15°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO	1.35 ± 0.03a	0.12 ± 0.01a	2.23 ± 0.01a	0.2 ± 0.01a
M2B	0.61 ± 0.06c	0.06 ± 0.01b	1.75 ± 0.14b	0.17 ± 0.01b
M3B-HM	1.13 ± 0.09b	0.12 ± 0.01a	1.53 ± 0.15a	0.15 ± 0.01b

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 14*Efecto del consorcio microbiano en la biomasa fresca y materia seca 24°C*

Tratamiento a 24°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO	1.7 ± 0.05a	0.14 ± 0a	2.28 ± 0.01a	0.22 ± 0a
M2B	0.6 ± 0.05c	0.07 ± 0c	1.48 ± 0.17b	0.17 ± 0.02b
M3B-HM	1.2 ± 0.07b	0.11 ± 0.01b	2.12 ± 0.16a	0.2 ± 0.01ab

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 15*Efecto del consorcio microbiano con Cd en la biomasa fresca y materia seca 15°C*

Tratamiento a 15°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + Cd	0.56 ± 0b	0.13 ± 0b	0.62 ± 0.04a	0.1 ± 0a
TRIGO+ M2B + Cd	0.15 ± 0.01c	0.04 ± 0c	0.55 ± 0.05a	0.1 ± 0.01a
TRIGO+ M3B- HM + Cd	0.71 ± 0.02a	0.2 ± 0.02a	0.6 ± 0.08a	0.09 ± 0.01a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 16

Efecto del consorcio microbiano con Cd en la biomasa fresca y materia seca 24°C

Tratamiento a 24°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + Cd	0.49 ± 0.02b	0.13 ± 0.01b	0.48 ± 0.05a	0.09 ± 0.01a
TRIGO+ M2B + Cd	0.18 ± 0c	0.05 ± 0c	0.47 ± 0.02a	0.1 ± 0a
TRIGO+ M3B- HM + Cd	0.66 ± 0a	0.17 ± 0a	0.57 ± 0.06a	0.09 ± 0.01a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 17

Efecto del consorcio microbiano con Pb en la biomasa fresca y materia seca 15°C

Tratamiento a 15°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + Pb	1.04 ± 0.05a	0.11 ± 0.01b	1.4 ± 0.06a	0.15 ± 0a
TRIGO+ M2B + Pb	0.5 ± 0.1b	0.07 ± 0.01c	1.07 ± 0.15b	0.13 ± 0.01a
TRIGO+ M3B- HM + Pb	1.19 ± 0.05a	0.15 ± 0a	1.31 ± 0.02a	0.15 ± 0a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 18

Efecto del consorcio microbiano con Pb en la biomasa fresca y materia seca 24°C

Tratamiento a 24°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + Pb	0.85 ± 0.07b	0.11 ± 0.01a	1.4 ± 0.02a	0.17 ± 0a
TRIGO+ M2B + Pb	0.37 ± 0.08c	0.06 ± 0.01b	0.73 ± 0.14b	0.12 ± 0.02b
TRIGO+ M3B-HM + Pb	1.56 ± 0.07a	0.13 ± 0.01a	1.61 ± 0.07a	0.17 ± 0.01a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 19

Efecto del consorcio microbiano con Al en la biomasa fresca y materia seca 15°C

Tratamiento a 15°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + Al	0.99 ± 0.01a	0.11 ± 0b	1.15 ± 0.09a	0.13 ± 0a
TRIGO+ M2B + Al	0.39 ± 0.01b	0.06 ± 0c	0.86 ± 0.04a	0.1 ± 0.01a
TRIGO+ M3B-HM + Al	1.15 ± 0.16a	0.18 ± 0.02a	0.9 ± 0.26a	0.11 ± 0.02a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

Tabla 20

Efecto del consorcio microbiano con AI en la biomasa fresca y materia seca 24°C

Tratamiento a 24°C	RAIZ		PARTE AÉREA	
	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)	Biomasa fresca (g)	Peso seco (g)
TRIGO + AI	1 ± 0.05ab	0.11 ± 0ab	1.13 ± 0.2a	0.14 ± 0.02a
TRIGO+ M2B + AI	0.7 ± 0.14b	0.08 ± 0.01b	1.07 ± 0.08a	0.14 ± 0.01a
TRIGO+ M3B-HM + AI	1.18 ± 0.19a	0.14 ± 0.02a	1.28 ± 0.13a	0.14 ± 0a

Los valores son medias de tres repeticiones analizadas a los 15 días de crecimiento, las letras representan las diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% según la prueba Tukey.

4.4. Diversidad taxonómica de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica con mejores resultados.

Figura 18

Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de filo

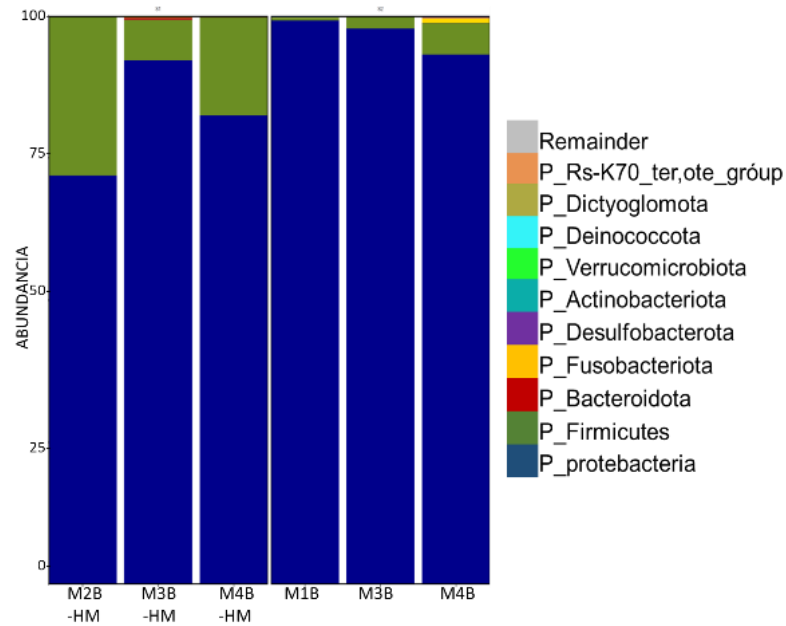


Figura 19

Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de clase

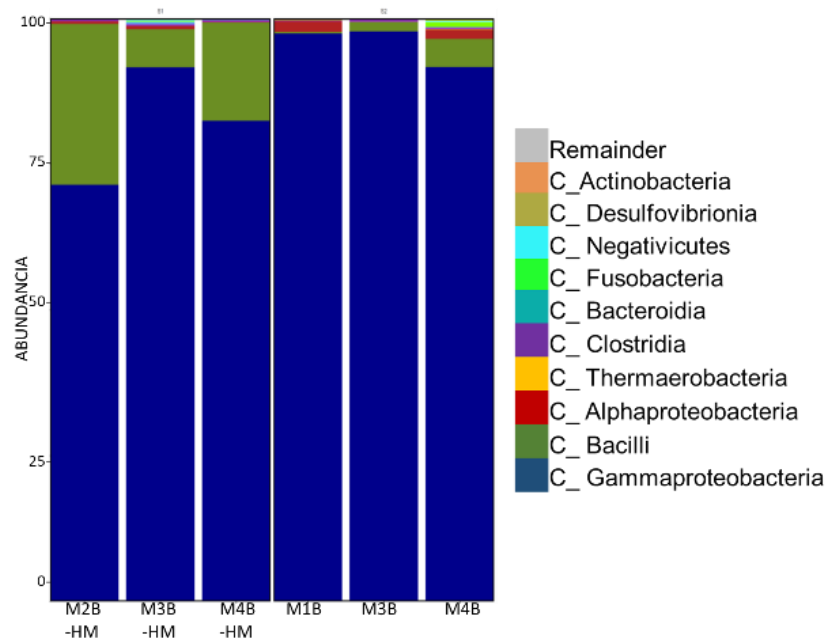


Figura 20

Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de orden

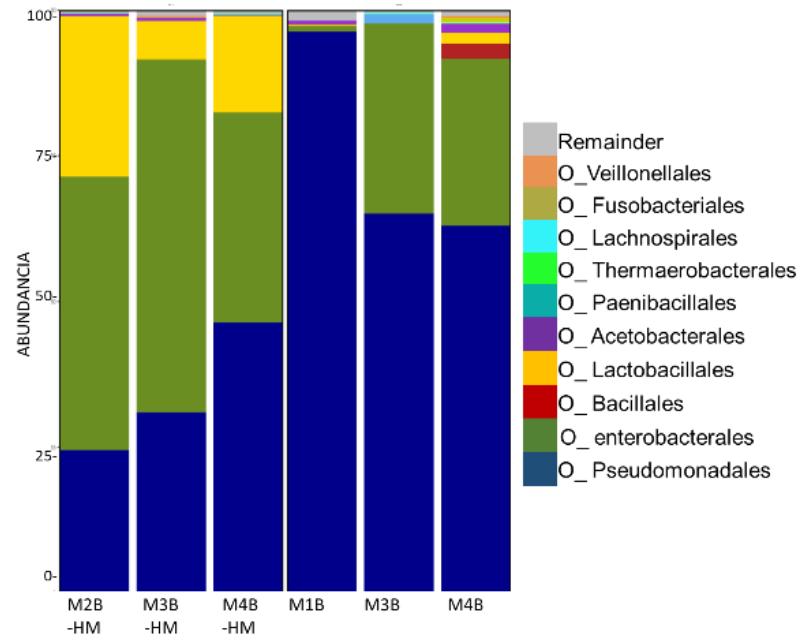


Figura 21

Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de familia

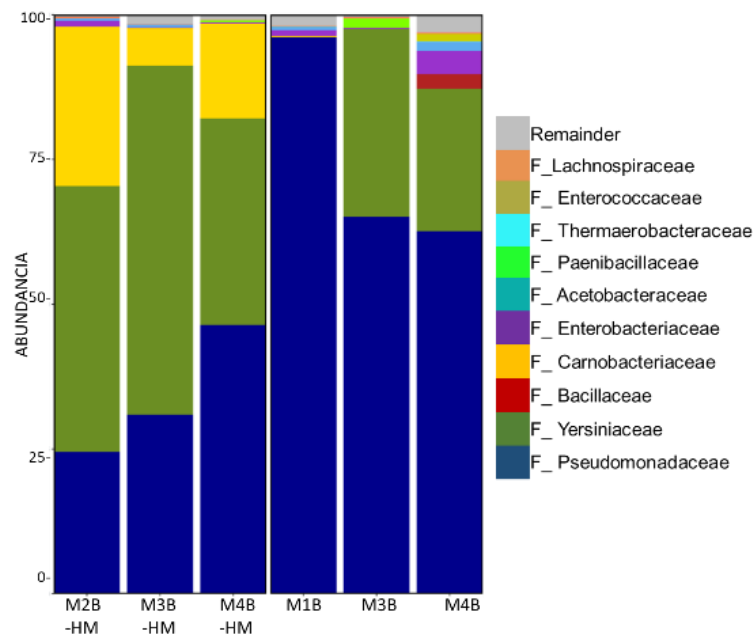
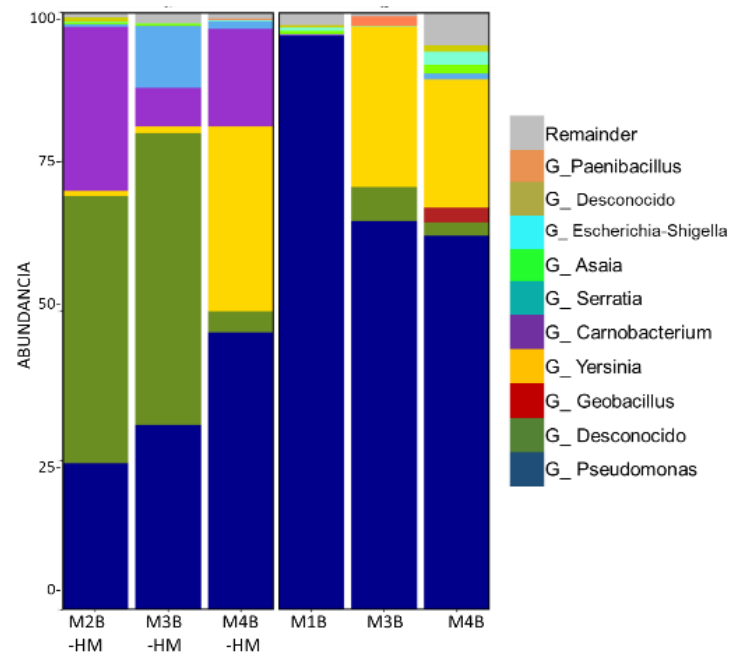


Figura 22

Distribución de las clasificaciones más abundantes a nivel de género



CAPÍTULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Consorcios microbianos aislados y caracterizados fisicoquímicamente de los suelos colectados de la Punta Olímpica

La contaminación del suelo por metales pesados resulta ser una amenaza hacia el ecosistema contaminado, debido a que los metales persisten y no se degradan por su naturaleza (Kneževića et al., 2021). Respecto al análisis de fertilidad de las muestras de suelo se encontró que M1, M3 y M4 tiene clase textural franco arenoso el cual no favorece en la retención de agua debido al bajo porcentaje de porosidad en comparación con un suelo franco que favorece los procesos biológicos, físicos y químicos (Hossne-García et al., 2009), mientras que M2 es de tipo arenoso, lo cual coincide con el color claro y estructura laminar observada al momento de muestrear por lo que no puede retener agua, además posee escasa reserva de nutrientes (López , 2006)

Por otro lado, el pH tiene influencia en las propiedades físicas, químicas y biológicas. Todos los suelos muestreados han presentado pH entre 3.57 y 4.81 (ver Tabla 3) lo que indica que son suelos ácidos y esto podría deberse a un alto contenido de aluminio y hierro presentes en las muestras las cuales fueron tomadas de pendientes pronunciadas, por lo cual pudo haber existido arrastre de sales y nutrientes por escorrentía (Cremona & Enriquez, 2020; López , 2006; Rivera et al., 2018).

El estrés abiótico por metales pesados es uno de los factores que inhibe el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Ahmad et al., 2014), es así como se adentra en el estudio de fitorremediación debido a sus ventajas económicas y técnicas, usando microorganismos resistentes a los metales pesados para apoyar en el crecimiento de las plantas frente a estrés metálico (Ahmad et al., 2014; Xie et al., 2021). En el análisis de metales de los suelos de la Punta Olímpica (ver Tabla 4) se observa que la muestra M4 presenta mayores cantidades de Al, Cd, Cu, Cr, Fe, Ni, Pb y Zn; mientras que la muestra M1 presenta baja concentración en Cd y Al y la muestra M2, en Pb. Sin embargo, en el resultado de análisis la cantidad de metales superaron los valores de los 3 parámetros de ECA para suelo agrícola, As, Cd y Pb en casi todas las muestras, a excepción de la Muestra 3 (M3) en la cual el valor hallado en los parámetros de As (9.23 mg/kgPS) y Cd (<0.50 mg/kgPS), fue menor a los dispuestos en la norma (MINAM, 2017), por lo cual no estuvo sometido a estrés por metales pesados en esos parámetros.

La acidez de suelo dificulta la actividad de bacterias y hongos, además el frío retrasa el crecimiento de los mismos (López , 2006). Debido a que la Punta Olímpica posee temperaturas muy bajas hasta de -4°C durante el muestreo, los consorcios microbianos aislados se cultivaron a dos temperaturas de incubación para cada prueba, a 15°C y 24°C, similarmente Mishra et al. (2011) realizó las pruebas de AIA, producción de sideróforos y solubilización de fosfatos de microorganismos que aisló de raíces y suelo rizosférico de la región noroccidental del Himalaya Indio que se encuentra a temperaturas entre -4°C a 10°C a temperaturas de 4, 15 y 28°C para evaluar la capacidad fisiológica de condiciones de frío.

5.2. Producción de ácido indolacético, sideróforos, y solubilización de fosfatos en el consorcio microbiano aislado.

La producción de AIA, es uno de los mecanismos directos más importantes de promoción de crecimiento vegetal, esta fitohormona al estar presente en las plantas ayuda en los diferentes procesos de crecimiento de la planta (Teale et al., 2006; Silva Galeano et al., 2021). La mayor producción de AIA a 15°C (ver Figura 5) y 24°C (ver Figura 6) fue del consorcio M3B-HM con

229.18 $\mu\text{g/ml}$ y 181.18 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, valores superiores a la producción de AIA de las cepas bacterianas tolerantes a cadmio aislados de la rizósfera de maíz, incubadas a 28°C (Ahmad et al., 2014), y a su vez valores mayores a la cepa BEP18 (53.42 $\mu\text{g/ml}$) aislada de *Distichia muscoides* de la Punta Olímpica, incubada a 24 °C (Huamán, 2018).

Los valores máximos para la producción de AIA en los consorcios de hongos a 15°C (ver Figura 7) y 24°C (ver Figura 8) fueron de M4H-HM 6.18 $\mu\text{g/ml}$ y 28.7 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente a 15 días, en este caso se tuvo producción menor a lo encontrado en la producción de *Aspergillus niger* (60.04 $\mu\text{g/ml}$) (Silva Galeano et al., 2021), estos valores fueron cercanos a los obtenidos por la cepa HRP02 (5.68 $\mu\text{g/ml}$) aislada de *Distichia muscoides* de la Punta Olímpica, incubada a 24 °C (Huamán, 2018). Los valores obtenidos de la producción de AIA, es decir producen hormonas vegetales lo que genera una posibilidad de encontrar al mejor consorcio para la simbiosis entre microorganismos y planta, ayudando en la elongación de raíz o el aumento de las raíces laterales de esta última y que sirven de absorción de más nutrientes y ayuda a que tenga mayor resistencia al estrés por metales pesados y podría proteger a la planta de posibles fitopatógenos que pueden encontrarse en el sustrato, en presencia del L-triptófano (Dodd et al., 2010; Matsukawa et al., 2007; Ojuederie & Babalola, 2017; Vega-Celedón et al., 2016). En la presente investigación se ha encontrado que el consorcio M3B-HM produjo mayor cantidad de raíces secundarias en el trigo.

Según diversos estudios se ha confirmado que existe una relación directamente proporcional entre el desarrollo y crecimiento de las raíces con la producción de sideróforos (Kneževića et al., 2021; Yahaghi et al., 2019), así mismo la producción de sideróforos de las cepas bacterianas podría ser una de las razones para que la planta inoculada absorba más metales pesados (Yahaghi et al., 2019). Según Machuca & Milagres (2003) los porcentajes de unidades de sideróforo (SU) debajo de 10 se consideraron como una reacción CAS negativa, en el caso de los consorcios de bacterias en esta investigación tuvieron los resultados fueron inferiores a 10%, excepto el consorcio M3B-HM que tuvo un 10.06% a 24°C. Por otro lado, los consorcios de hongos no tuvieron

porcentajes favorables a 15°C (ver Figura 9), pero en 24°C (ver Figura 10) se obtuvo desde 16% (M3H) hasta 42% (M2H) en reactivo CAS, resultados mayores a *Aspergillus* sp. (8%) (Machuca & Milagres, 2003), pero menores a los resultados de Silva Galeano et al. (2021) que obtuvo cepas con SU entre 23% y 88%, las cuales al ser inoculadas en una planta ayudarán en la fotosíntesis y desarrollo de esta al suministrarle Fe en forma soluble del medio o sustrato en el que se encuentre, con este mecanismo ayudará a la planta en la supresión de fitopatógenos sin que esta sea afectada, además colabora en el desarrollo y crecimiento de la planta hospedera otorgándole mayor tolerancia frente al estrés por metales pesados (Aguado-Santacruz et al., 2012; Ojuederie & Babalola, 2017; Rajkumar et al., 2012).

Uno de los nutrientes que definen el crecimiento adecuado de las plantas es el fósforo, en el suelo se encuentra presente formando precipitados con el calcio, aluminio y hierro, lo que hace que sea menos disponible para la absorción por las plantas (Silva Galeano et al., 2021), por ello el estudio de los microorganismos aislados del suelo que pueden ser capaces de solubilizar compuestos no solubles de fósforo a compuestos solubles (Machuca & Milagres, 2003). La solubilización de fosfatos a 15°C y 24°C de los consorcios fue positiva en todos los consorcios bacterianos (ver Figura 11), donde se obtuvo que el índice de solubilización de fosfato entre 2 y 4; lo cual es considerado como alto nivel de actividad solubilizadora según Pang et al. (2022) quienes indican que valores mayores o igual a 2 es considerado como alto nivel, índice comprendido entre 1.5 y 2 es un nivel medio y menor a 1.5 se considera un bajo nivel. Los valores encontrados para los consorcios son similares los encontrados en las cepas de bacterias productoras de sideróforos de la Punta Olímpica que mostraron IFS mayores a 2 (Huamán (2018).

Para el caso de los hongos las IFS (ver Figura 12) estuvieron entre 1 y 1.5 para los consorcios M3H, M4H y M3H-HM a 24°C, por lo que se encuentra en un nivel bajo, para los consorcios M1H, M2H, M1H-HM, M2H-HM y M4H-HM se observó que se encuentran entre los rangos de 1.5 a 2, considerando un nivel medio de actividad solubilizadora de fosfatos. Para 15°C, el consorcio M2H tuvo

un IFS menor a 1, mientras que M1H-HM y M4H-HM obtuvieron valores entre 1.5 y 2, por lo que hubo actividad baja y media respectivamente como también se obtuvo según la investigación de Huamán (2018) con índices iguales o menores a 1.5 en algunos hongos aislados de la Punta Olímpica. Los consorcios de bacterias tuvieron mayor IFS en comparación con el consorcio de los hongos como lo asegura (Beltrán-Pineda, 2014), por lo que al ser utilizado como inoculante de planta ayudará a obtener ortofosfatos necesarios para su crecimiento, es decir las raíces de las plantas tendrán mayor disponibilidad de absorber el fósforo en su estado orgánico y soluble transformado por el microorganismo con capacidad de promoción de crecimiento vegetal (Beltrán-Pineda, 2014; Ojuederie & Babalola, 2017).

5.3. Bioensayo para medir el efecto del consorcio microbiano sobre *Triticum aestivum* bajo condiciones de estrés por metales pesados.

El uso de microorganismos que se ha comprobado que tienen propiedades promotoras de crecimiento vegetal, han sido considerados como un gran avance a lo largo de los años ya que ayudan en el crecimiento de las plantas, además que reducen el manejo de fertilizantes y pesticidas que son nocivos a la salud humana y ambiental, la aplicación de estos microorganismos promueve el aumento de germinación de semillas, el desarrollo de raíces y parte aérea (Montañez et al., 2012). El porcentaje de germinación usando los consorcios M2B y M3B-HM indicó que no hay nivel de significancia entre el inóculo con metal y el blanco; lo cual puede suceder con cereales como el maíz al ser inoculado con cepas bacterianas tales como *Rhanelia*, *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Enterobacter* (Montañez et al., 2012).

En la longitud de raíces y parte aérea del trigo a 15°C y 24°C (ver Tabla 5-12), se observó que no hubo diferencia significativa entre la adición de los consorcios M2B y M3B-HM con respecto a trigo + Cd, trigo + Pb y trigo + Al y el trigo sin enriquecimiento metálico.

En las plantas de trigo inoculadas con el consorcio M3B-HM y con los metales Cd, Pb y Al (ver Tabla 12-20) tuvieron un incremento en la biomasa

fresca con respecto al blanco de cada tratamiento. Se pudo observar que la parte aérea y raíz del trigo cultivado con el tratamiento M3B-HM + Pb incrementaron significativamente el peso de biomasa fresca como también de la materia seca, comparado con el blanco a 15°C y 24°C.

Por otro lado, los tratamientos que contenían Cd, también tuvieron una diferencia significativa en la biomasa fresca de la raíz, siendo el mejor tratamiento M3B-HM + Cd, del mismo modo ocurrió con los tratamientos con Al, donde se encontró diferencias significativas de la inoculación de M3B-HM + Al con el blanco a ambas temperaturas para la biomasa fresca y peso seco de las raíces a ambas temperaturas. Por lo tanto, mejores evidencias de fitorremediación asistida se observaron para el Pb, mientras que para el Cd y Al fue menor, donde el consorcio bacteriano M3B-HM ayudó a incrementar la biomasa fresca y seco de las plantas, en comparación con el blanco de cada tratamiento no inoculado; resultado similar al de Bécquer et al. (2007) quienes utilizaron *Sinorhizobium medicae* inoculado en trigo. Además, en las características de las raíces, se encontró que aquellas plantas que fueron inoculadas con el consorcio M2B y M3B-HM con Cd, Pb y Al, tuvieron disminución en el tamaño de raíces, pero con mayor cantidad de pelos radiculares y raíces laterales esto puedes aumentando el peso de raíz esto puede asociarse a la producción de auxinas del consorcio bacteriano (Dodd et al., 2010); estas características ayudan a que la planta extraiga y absorba más nutrientes (Bécquer et al., 2007; Mishra et al., 2011).

En este sentido, la fitorremediación asistida por el consorcio M3B-HM podría ser una buena estrategia para desarrollar un método eficiente, eficaz y económico de fitorremediación de metales pesados; debido a que la introducción de estos consorcios microbianos aislados de suelos contaminados al ser parte de la misma microbiota del suelo no perturbarían el ambiente a remediar (Kang et al., 2016).

5.4. Diversidad taxonómica de un consorcio microbiano aislado de suelos contaminados con metales pesados de la Punta Olímpica con mejores resultados.

Según los resultados de la composición microbiana de los consorcios evaluados se encontró *Dictyoglomota*, *Deinococcota*, *Verrucomicrobiota*, *Actinobacteria*, *Desulfobacterota*, *Fusobacteriota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* como los filos más representativos, a nivel de orden fueron las *Pseudomonadales*, *Enterobacteria*, *Lactobacillales*, *Acetatobacterales*, *Paenibacillales*. En el caso del consorcio M3B-HM los géneros más representativos fueron *Pseudomonas*, *Yersiniaceae*, *Carnobacterium*, *Serratia*, *Yersinia*, *Asaia*.

Las cepas *Rhanella*, *Rhizobium*, *Pseudomona* y *Enterobacter* han sido consideradas como bacterias promotoras de crecimiento vegetal, donde varias cepas producen AIA, así mismo por ejemplo *Pseudomona fluorescens* produjo sideróforos y tuvo efecto positivo sobre el crecimiento de trigo y maíz (Montañez et al., 2012; Pang et al., 2022). Algunas especies del género *Pseudomona*, como *P. psychrophila* o psycotolerantes pueden tener actividades promotoras de crecimiento vegetal hasta a -4°C y ayudar a crecer a las plantas de trigo a -8°C en condiciones de invernadero, mejora la biomasa de raíz y parte aérea comparado con la planta no inoculada (Mishra et al., 2011). Por otro lado, cepas del género *Serratia* y *Bacillus* poseen capacidad de tolerancia al Pb y resistencia al Cd, además se ha encontrado que *Serratia* y *Rhanella* ayudan en el crecimiento y en el aumento de peso seco del trigo, es así que son consideradas como potenciales promotores del crecimiento vegetal (Muñoz-Silva et al., 2019; Ulloa-Muñoz et al., 2020).

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

- Se colectaron 4 muestras de suelo de la Punta Olímpica, los cuales presentaron un pH ácido, con textura franco arenosa en las muestras M1, M3 y M4, y arenosa en M2, además se aislaron 16 consorcios microbianos, 4 de bacterias, 4 de hongos, 4 de bacterias enriquecidas con metal pesado y 4 de hongos enriquecidas con metal pesado.
- La mayor producción de AIA en los consorcios de bacteria fue registrada por M3B-HM, seguido de M3B (229.18 $\mu\text{g/ml}$ y 133.13 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente) a 15°C; mientras que a 24°C fueron los consorcios M3B-HM y M4B-HM (181.18 $\mu\text{g/ml}$ y 177.3118 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). Para el caso de los consorcios de hongos, M4H-HM presentó la mayor producción (28.7 $\mu\text{g/ml}$) a 24°C.

A 24°C, la mayor producción de sideróforos lo presentó el consorcio microbiano M3B-HM (10%), mientras que los consorcios de hongos M3H y M2H, presentaron producciones del 16% y 42%, respectivamente.

Los mejores resultados de Índice de Solubilización de Fosfato para los consorcios de bacterias, a 15°C, fueron: M2B (2.7), M1B-HM (3), M2B-HM (3) y M3B-HM (3.1) y a 24°C, fueron M1B (3.3) y M2B (3.3), lo cual, al ser todos mayores de 2, significa que tienen un alto nivel de IFS. Para el consorcio de hongos, los mejores resultados de IFS se observaron en los



consorcios M2H (0.8), M1H-HM (1.4) y M4H-HM (1.5) a temperatura de 15°C, mientras que a 24°C fueron M2H (1.9) y M2H-HM (1.9).

- En el bioensayo in vitro con *Triticum aestivum* “trigo”, las plantas inoculadas con el consorcio M3B-HM enriquecido con Cd, Pb y Al mostraron mayor influencia en el peso de biomasa fresca y seca que en condiciones de trigo + Cd, trigo + Pb y trigo + Al, a 15°C y 24°C.
- El consorcio M4B fue el que presentó mayor diversidad microbiana, M3B tuvo una diversidad promedio y M1B poca diversidad. Entre los consorcios M2B-HM, M3B-HM y M4B-HM hubo similar diversidad microbiana. En el consorcio M3B-HM se encontraron *Pseudomona*, *Yersinia* y *Serratia* como los géneros más representativos.

6.2. RECOMENDACIONES

- Evaluar el crecimiento de los consorcios microbianos a diferentes temperaturas con metales pesados.
- Realizar una tolerancia a los metales pesados de todos los consorcios microbianos.
- Realizar las pruebas de promoción de crecimiento vegetal con adición de metales pesados.
- Realizar bioensayos con inoculación de todos los consorcios aislados.
- Utilizar otra planta forrajera con antecedentes de fitorremediación para aplicar los diferentes tratamientos con metales pesados.
- Promover el uso de consorcios microbianos como una alternativa de fitorremediación asistida que promueva el crecimiento vegetal y la tolerancia a metales pesados, con la finalidad de disminuir la concentración de estos metales en suelos contaminados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, S., Tariq Javed, M., Shahid, M., Hussain, I., Zulqurnain, H., Javed, H., . . . Maqsood, A. (2020). Acinetobacter sp. SG-5 inoculation alleviates cadmium toxicity in differentially Cd tolerant maize cultivars as deciphered by improved physio-biochemical attributes, antioxidants and nutrient physiology. pp. 815-827. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.024>
- Abhilash, P. C., Powell, J., Singh, H., & Sing, B. (2012). Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. *Trends in Biotechnology*, 30(8), 416-420. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.04.004>
- Aguado-Santacruz, G., Moreno-Gómez, B., Jimenez, B., y García Moya, E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 9-21. <https://doi.org/https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.9>
- Ahmad, I., Aktar, M. J., Zahir, Z. A., Naveed, M., Mitter, B., & Sessitsch, A. (2014). Cadmium-tolerant bacteria induce metal stress tolerance in cereals. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 11054–11065. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-014-3010-9>
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Azubuike, C., Chikere, C. B., & Owopokwasili, G. (2016). Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World journal of microbiology & biotechnology*, 32(11), 180. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- Bécquer, C. J., Salas, B., Archambault, D., Slaski, J., y Anyia, A. (2007). Inoculación de trigo (*Triticum aestivum*, L.) con rizobios adaptados a ecosistemas ganaderos de Alberta, Canadá. *Pastos y forrajes*, 30(1), 133-141.
- Belimov, A. A., Zinovkina, N. Y., Safronova, V. I., Litvinsky, V. A., Nosikov, V. V., Zavalin, A. A., & Tikhonovich, I. A. (2019). Rhizobial ACC deaminase contributes to efficient symbiosis with pea (*Pisum sativum* L.) under single and combined cadmium and water deficit stress. *Environmental and Experimental Botany*, 167. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103859>
- Beltrán-Pineda, M. E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113. https://doi.org/https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num1_art:401
- Brutti, L., Beltrán, M., y García de Alamone, I. (2018). *Biorremediación de los recursos naturales*. aRGENTINA: Ediciones INTA.
- Cabildo Miranda, M., Cornago Ramírez, M., Escolástico León, C., Esteban Santos, S., López García, C., y Sanz del Castillo, D. (2013). *Bases químicas del medio ambiente*. Universidad Nacional de Educación a Distancia.

- Castilla, D., y Carrillo, E. (2014). Determinación y selección de un consorcio de microorganismo nativos de relaves mineros, capaces de remover Cu(II) de una solución mineral sintética en un biorreactor RAEFA-EZ. (*Tesis de pregrado*). Universidad Católica de Santa María, Arequipa.
- Contero, R., y Felicita, O. (2006). Utilización de bioensayos para la determinación de contaminación. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 4(1), 38-42. <https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n4.2005.05>
- Cornejo, M. D. (2016). Biorremediación de relaves mineros con un consorcio microbiano nativo caracterizado molecularmente y productor de enzimas degradadoras de cianuro y derivados. (*Tesis de posgrado*). Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes.
- Cremona, M. V., y Enriquez, A. S. (2020). Algunas propiedades del suelo que condicionan su comportamiento: El pH y la conductividad eléctrica. *INTA Digital*, 1(73), 5-8.
- de-Bashana, L., Hernandez, J.-p., & Bashana, Y. (2012). The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. *Applied Soil Ecology*, 61, 171-189. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.003>
- Des Maris, D., & Juenger, T. (2010). Pleiotropy, plasticity, and the evolution of plant abiotic stress tolerance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1206, 56-79. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05703.x>
- Dodd, C. I., Zinovkina, N. Y., Safronovazy, V., & Belimov, A. A. (2010). Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*, 157, 361-379. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00439.x>
- Feng, G., Xie, T., Wang, X., Bai, J., Tang, L., Zhao, H., . . . Zhao, Y. (2018). Metagenomic analysis of microbial community and function involved in cd-contaminated soil and function involved in cd-contaminates soil. *BMC Microbiology*, 18(11). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12866-018-1152-5>
- Gadd, G. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156, 609-643. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 1-15. <https://doi.org/https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & McConkey, B. (2007). Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 6, 227-242. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/07352680701572966>
- Greipsson, S. (2011). Phytoremediation. *Nature Education Knowledge*, 3, 7.
- Hossne-García, A., Mayorca-Jaime, Y. N., Salazar-Bastardo, L. D., Subero-Llovera, F. A., y Zacillo-Contreras, A. M. (2009). Humedad compactante y sus implicaciones agrícolas en dos suelos franco arenoso de sabana del estado Monagas, Venezuela. *UDO Agrícola*, 9(5), 937-950.
- Hu , Q.-P., & Xu, J.-G. (2011). A simple double-layered chrome azurol S agar (SDCASA) plate assay to optimize the production of siderophores by a potential biocontrol agent Bacillus. *African Journal of Microbiology Research*, 5(75), 4321-4327. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.238>

- Huamán, G. D. (2018). Evaluación de las potencialidades de los microorganismos asociados a plantas altoandinas para procesos de biorremediación, Punta Olímpica - Parque Nacional Huascarán – 2016. (*Tesis de pregrado*). UNASAM, Huaraz.
- Jiang, C., Sheng, X., Qian, M., & Wang, Q. (2008). Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*, 72, 157-164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.02.006>
- Jiang, D., & Yan, S. (2017). Effects of Cd, Zn or Pb stress in *Populus alba berolinensis* on the development and reproduction of *Lymantria dispar*. *Ecotoxicology*, 26, 1305-1313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10646-017-1855-7>
- Kang, C.-H., Kwon, Y.-J., & So, J.-S. (2016). Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. *Ecological Engineering*, 89, 64-69. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>
- Kneževića, M. M., Stajković-Srbinovića, O., Assel, M., Milić, M., Mihajlovski, K., Delić, D., & Buntić, A. (2021). The ability of a new strain of *Bacillus pseudomycooides* to improve the germination of alfalfa seeds in the presence of fungal infection or chromium. *Rhizosphere*, 18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100353>
- Kochian, L. V., Piñeros, M. A., Liu, J., & Magalhaes, J. V. (2015). Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. *Annual Review of Plant Biology*, 66, 571-598. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>
- Kopittke, P. M., Moore, K. L., Lombi, E., Gianoncelli, A., Ferguson, B., Blamey, F. C., . . . Tollenaere, A. (2015). Identification of the Primary Lesion of Toxic Aluminum in Plant Roots. *Plant Physiology*, 164(4), 1402-1411. <https://doi.org/https://doi.org/10.1104/pp.114.253229>
- Kraft, M., Kuglitsch, R., Kwiatkowski, J., Frank, M., & Grossman, K. (2007). Indole-3-acetic acid and auxin herbicides up-regulate 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene expression and abscisic acid accumulation in cleavers (*Galium aparine*): interaction with ethylene. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1497-1503. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jxb/erm011>
- Kumar, A., & Verma, J. P. (2018). Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? *Microbiological Research*, 207, 41-52. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>
- Kumar, V., & Narula, N. (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, 28, 301-305. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s003740050497>
- Kumla, J., & Suwannarach, N. (2014). Indole-3-acetic acid production, solubilization of insoluble metal minerals and metal tolerance of some sclerotoid fungi collected from northern Thailand. 64, 707-720. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13213-013->

- Li, J., Su, L., Lv, A., Li, Y., Zhou, P., & An, Y. (2020). MsPG1 alleviated aluminum-induced inhibition of root growth by decreasing aluminum accumulation and increasing porosity and extensibility of cell walls in alfalfa (*Medicago sativa*). *Environmental and Experimental Botany*, 175. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104045>
- Loper, E., & Schroth, M. (1986). Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology*, 76, 386-389. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1986Articles/Phyto76n04_386.PDF
- López, A. J. (2006). *Manual de edafología*. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química agrícola de la Universidad de Sevilla.
- Machuca, A., & Milagres, A. M. (2003). Use of CAS-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus*. *Applied Microbiology International*, 36(3), 177-181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01290.x>
- Márquez, A. (22 de febrero de 2021). *Rizosfera: qué es, para qué sirve, composición e importancia*. Ecología verde: <https://www.ecologiaverde.com/rizosfera-que-es-para-que-sirve-composicion-e-importancia-3266.html>
- Matsukawa, E., Nakagawa, Y., Limura, Y., & Hayakawa, M. (2007). Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetologica*, 21(1), 32-39. <https://doi.org/https://doi.org/10.3209/saj.SAJ210105>
- McGrath, S., Dunham, S., & Correl, R. (2000). Potential for phytoextraction of zinc and cadmium from soils using hyperaccumulator plants. In N. Terry, & G. Banuelos, *Phytoremediation of contaminated soil and water* (pp. 109-128). Lewis, Boca Ratos.
- MINAM. (2017). *Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo*. El Peruano.
- Ministerio del Ambiente. (2015). *Guía para la elaboración de estudios de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente*. Lima.
- Mishra, P. K., Bisht, S. C., Ruwari, P., Selvakumar, G., Joshi, G. K., Bisht, J. K., . . . Gupta, H. S. (2011). Alleviation of cold stress in inoculated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with psychrotolerant *Pseudomonads* from NW Himalayas. *Arch Microbiol*, 193, 497-513. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00203-011-0693-x>
- Montañez, A., Rodríguez Blanco, A., Barlocco, C., Beracochea, M., & Sicardi, M. (2012). Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects in vitro. *Applied Soil Ecology*, 58, 21-28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.009>
- Muñoz-Silva, L., Olivera-Gonzales, P., Santillán-Torres, M., & Tamariz-Angeles, C. (2019). Heavy metals tolerant microorganisms from mine tailing wastelands Santa Rosa, Jangas (Peru). *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 109-118. <https://doi.org/https://doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>
- Nauyital, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology letters*, 170(1), 265-270. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>

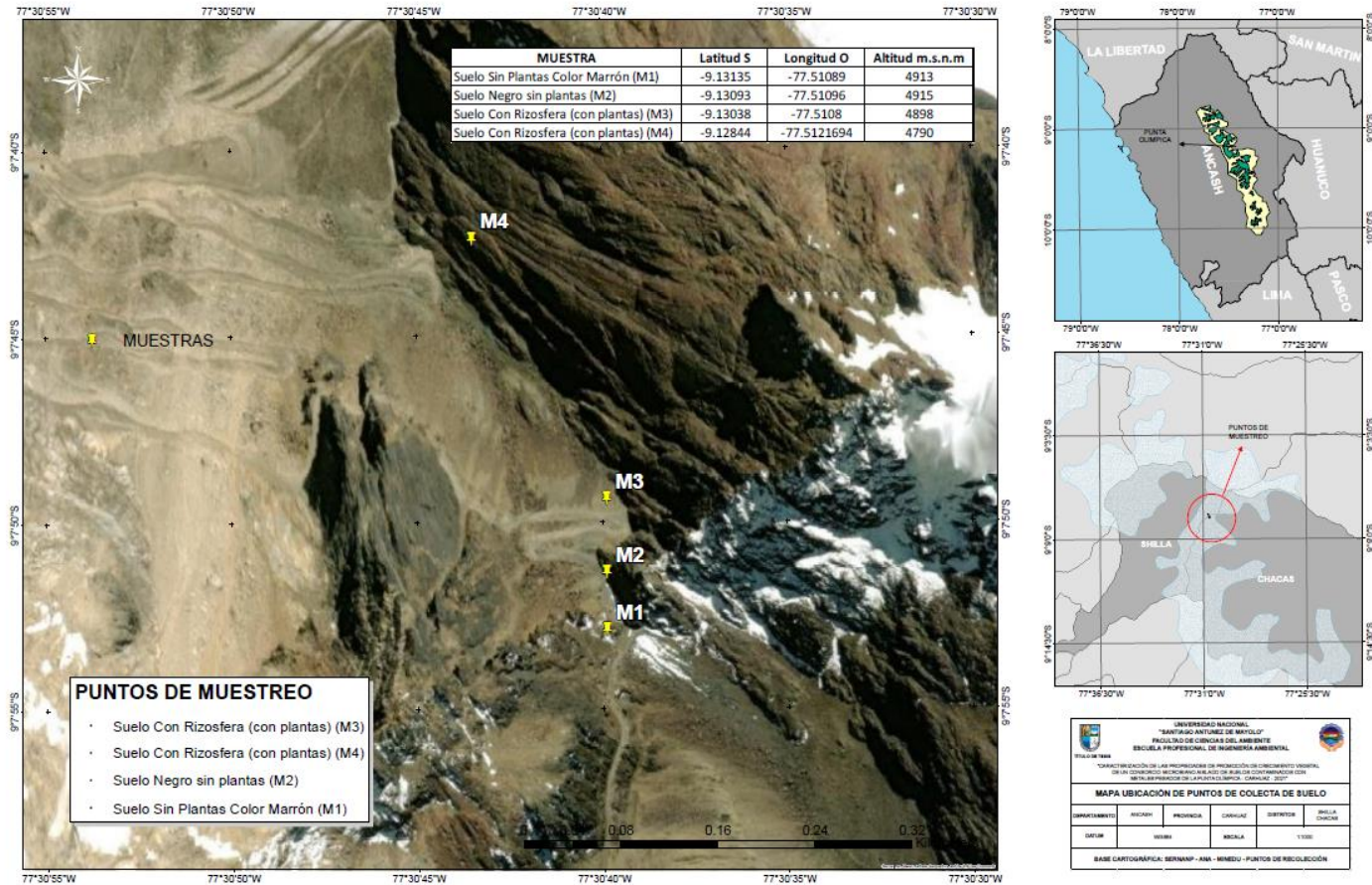
- Ojuederie, O. B., & Babalola, O. O. (2017). Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review. *International journal of environmental research and public health*, 14(12), 12-14. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijerph14121504>
- Onaga, G., & Wydra, K. (2016). Advances in Plant Tolerance to Abiotic Stresses. *Plant Genom*, 167-228. <https://doi.org/https://doi.org/10.5772/64350>
- Palacios, E. D. (2018). Caracterización de la comunidad microbiana asociada a la vegetación de pasivo minero ambiental Chahuapampa-Utcuyacu-Cátac y su potencial uso en la biorremediación-2016. (*Tesis de pregrado*). UNASAM, Huaraz.
- Pang, F., Tao, A., Ayra-Pardo, C., Wang, T., Yu, Z., & Huang, S. (2022). Plant organ- and growth stage-diversity of endophytic bacteria with potential as biofertilisers isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 22(276). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12870-022-03615-8>
- Perea-Vélez, Y., Carrillo-González, R., y González-Chávez, M. (2017). Microorganisms aided phytoremediation: focus on plant growth-promoting bacteria. *Agroproductividad*, 10(4), 34-40.
- Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, S., & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology advances*, 30(6), 1562-1574. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.011>
- Restrepo, J. (2007). Manual práctico, el A, B, C de la agricultura orgánica y harina de rocas. *l Servicio de Información Mesoamericano sobre Agricultura Sostenible*, 1-16.
- Reynoso, M., Magnoli, C., Barros, G., y Demo, M. (2015). *Manual de microbiología general*. Río Cuarto: UniRío Editora.
- Rivera, E., Sánchez, M., y Domínguez, H. (2018). pH como factor de crecimiento en plantas. *Revista de Iniciación Científica*, 4, 101-105. <https://doi.org/https://doi.org/10.33412/rev-ric.v4.0.1829>
- Rodicio, M., y Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm infecc Microbial Clin*, 22, 238-245.
- Rojas-Solís, D., Contreras-Pérez, M., y Santoyo, G. (2013). Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. *Biológicas*, 15(2), 36-41.
- Silva Galeano, R. M., Guerra Franco, D., Oliveira Chaves, P., Giannesi, G. C., Chodi, M. D., Ruller, R., . . . Fonseca Zanoelo, F. (2021). Plant growth promoting potential of endophytic *Aspergillus niger* 9-p isolated from native forage grass in Pantanal of Nhecolândia region, Brazil. *Rizhosphere*, 18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100332>
- Sudarikov, K., Tyakht, A., & Alexeev, D. (2017). Methods for the Metagenomic Data Visualization and Analysis. *Caister Academic Press*, 24, 37-58. <https://doi.org/https://doi.org/10.21775/cimb.024.037>
- Tamariz-Ángeles, C., Olivera-Gonzales, P., Villena, G., & Gutiérrez-Correa, M. (2014). Isolation and identification of cellulolytic and xylanolytic bacteria from Huancarhuaz hot spring. *Annual Research & Review in Biology*, 4(19), 2920-2930. <https://doi.org/https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/10699>

- Tasleem, A., Azam, M., Ali, A., & Mohd.Rizwanul Haq, Q. (2014). Prospects for Exploiting Bacteria for Bioremediation of Metal Pollution. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44:5, 519 - 560. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10643389.2012.728811>
- Teale, W. D., Paponov, I. A., & Palme, K. (2006). Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 847-859. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nrm2020>
- Ullah, A., Heng, S., Munis, M. F., Fahad, S., & Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 117, 28-40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.001>
- Ulloa-Muñoz, R., Olivera-Gonzales, P., Castañeda-Barreto, A., Villena, G., & Tamariz-Angeles, C. (2020). Diversity of endophytic plant-growth microorganisms from *Gentianella weberbaueri* and *Valeriana picantha*, highland Peruvian medicinal plants. *Microbiological research*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126413>
- Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., y Seeger, M. (2016). Biosíntesis de Ácido Indol-3-Acético y promoción de crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos tropicales*, 37, 31-37. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.5158.3609>
- Vithanage, M., Dabrowska, B., Mukherjee, A., & Sandhi, A. (2012). Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: A brief overview. *Environmental Chemistry Letters*, 217-224. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10311-011-0349-8>
- Wuana, R., & Okieimen, F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecology*, 1-20. <https://doi.org/https://doi.org/10.5402/2011/402647>
- Xie, Y., Bu, H., Feng, Q., Wassie, M., Ameer, M., Jiang, Y., . . . Chen, L. (2021). Identification of Cd-resistant microorganisms from heavy metal-contaminated soil and its potential in promoting the growth and Cd accumulation of bermudagrass. *Environmental Research*, 200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111730>
- Yahaghi, Z., Shirvani, M., Nourbakhsh, F., & Pueyo, J. J. (2019). Uptake and effects of lead and zinc on alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth: Role of plant growth promoting bacteria. *South African Journal of Botany*, 124, 573-582. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.006>
- Zahid, M., Abbasi, M. K., Hameed, S., & Rahim, N. (2015). Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Front Microbiol*(6), 1-15. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>

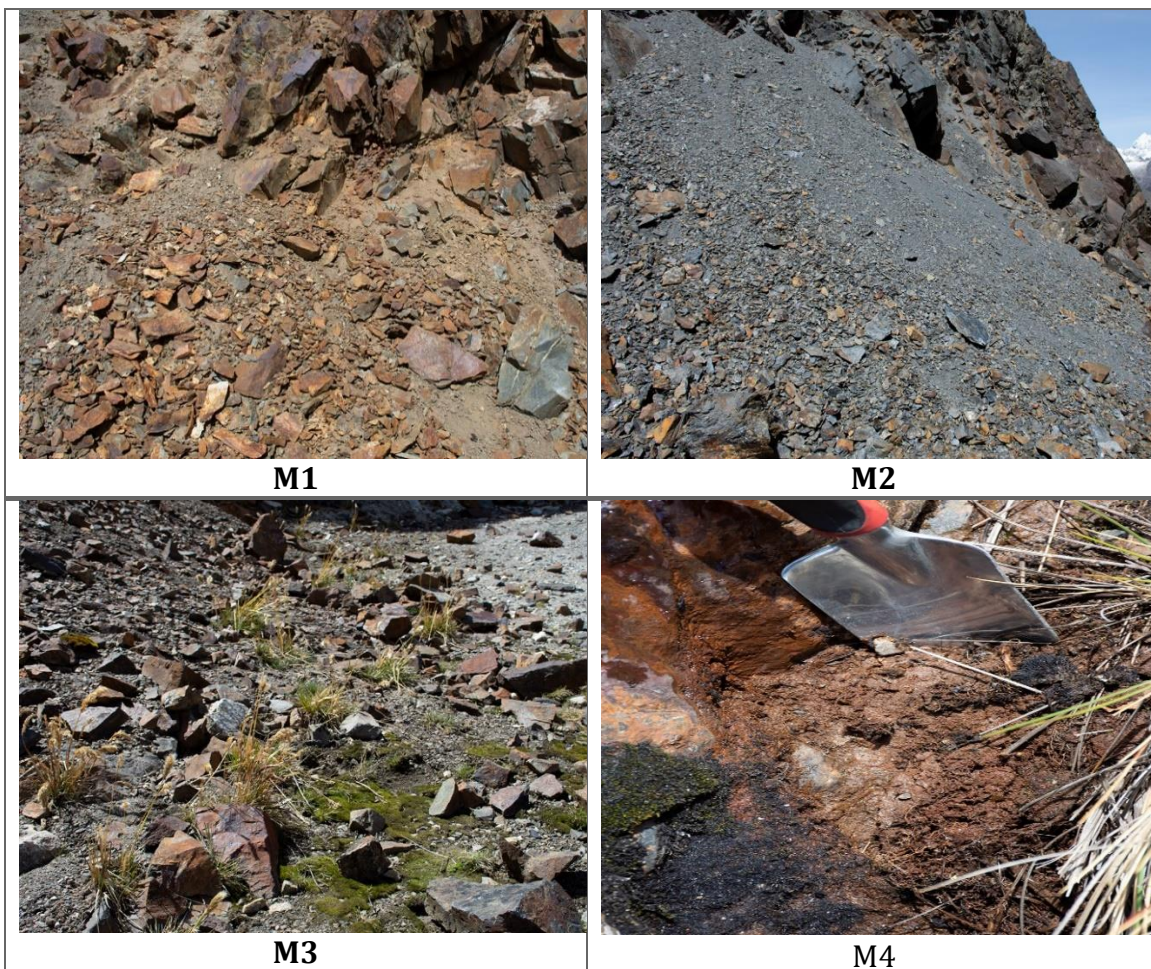
ANEXOS

ANEXO 1. Mapa de ubicación de muestras de suelos

MAPA UBICACIÓN DE PUNTOS DE COLECTA DE SUELO



ANEXO 2. Puntos de muestreo de suelo de la Punta Olímpica



ANEXO 3. Resultados de los análisis de fertilidad de las muestras de suelo



UNIVERSIDAD NACIONAL
"Santiago Antúnez de Mayolo"
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA - SHANCAYAN
Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ - REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Cochachin Soria Becky Milagritos - Tesista

MUESTRA : 01 - Punta Olimpica

UBICACIÓN : Quebrada Ulta - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O.%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Límo	Arcilla							
147	71	21	08	Franco arenoso	3.83	1.612	0.081	07	79	0.127

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción extremadamente ácido, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, medianamente rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 28 de febrero del 2023.



Ing. M.S. Guillermo Castillo Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
DE SUELOS Y AGUAS



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Cochachin Soria Becky Milagritos - Tesista

MUESTRA : 02 - Punta Olimpica

UBICACIÓN : Quebrada Ulta - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
147-a	95	01	04	arena	4.81	0.716	0.035	13	84	0.005

RECOMENDACIONES Y

OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura arena, se caracteriza por tener una reacción fuertemente ácido, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 28 de febrero del 2023.




Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
DE SUELOS Y AGUAS



UNIVERSIDAD NACIONAL
"Santiago Antúnez de Mayolo"
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA - SHANCAYAN
Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ - REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Cochachin Soria Becky Milagritos - Tesista

MUESTRA : 03 – Punta Olimpica

UBICACIÓN : Quebrada Ulta - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
148	71	19	10	Franco arenoso	3.95	1.810	0.091	17	70	0.032

RECOMENDACIONES Y

OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción extremadamente ácido, pobre en materia orgánica y % de nitrógeno total, rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 28 de febrero del 2023.



[Signature]
Ing. M.Sc. Guillermo Castro Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
DE SUELOS Y AGUAS



UNIVERSIDAD NACIONAL
"Santiago Antúnez de Mayolo"
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA - SHANCAYAN
Telefax. 043-426588 - 106
HUARAZ - REGIÓN ANCASH



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE FERTILIDAD

SOLICITANTE : Cochachin Soria Becky Milagritos - Tesista

MUESTRA : 04 - Punta Olimpica

UBICACIÓN : Quebrada Ulta - Carhuaz - Ancash

Muestra N°	Textura (%)			Clase Textural	pH	M.O.%	Nt. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
148-a	57	37	06	Franco arenoso	3.57	2.236	0.112	02	72	0.036

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción extremadamente ácido, medianamente rica en materia orgánica y % de nitrógeno total, pobre en fósforo y en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 28 de febrero del 2023.



Ing. M.Sc. Guillermo Castillo Romero
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS
DE SUELOS Y AGUAS

ANEXO 4. Resultados de los análisis de metales pesados de las muestras de suelo



INFORME DE ENSAYO CS220029

CLIENTE Razón Social : "CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA - CARHUAZ - 2021, COMO PONTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTICLA"

Dirección : Huaraz
Atención : Becky Cochachin Sonia

MUESTRA Producto declarado : Muestra de Suelo¹
Matriz : Suelos
Procedencia : Punta Olímpica - Carhuaz¹
Ref./Condición : Cadena de Custodia CC210019

MUESTREO Responsable : Muestra proporcionada por el cliente
Referencia : No indica

LABORATORIO Fecha de recepción : 01/Diciembre/2022
Fecha de análisis : 01 de Diciembre - 15 de Diciembre/2022
Cotización N° : CO220520

CÓD.	PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO	LÍMITE DE DETECCIÓN	MUESTRA	
					Código del cliente	M 1
					Fecha de muestra:	29/12/2022
					Hora muestra:	08:00
					Código del Laboratorio	CS220070
FQS ANALISIS FISICOQUIMICO EN SUELOS						
FQS10	pH (en laboratorio)	Unid. pH	NOM21-AS-02			4.22
MS METALES EN SUELOS						
MS01	Aluminio total	mg/Kg Al	CromoazuroI S	4.00		667.66
MS03	Arsénico total	mg/ Kg As	Plata - DDTc	2.00		19.35
MS08	Cadmio total	mg/Kg Cd	Derivé de cation	0.50		7.42
MS11	Cobre total	mg/Kg Cu	Cuprizona	4.00		64.29
MS12	Cromo total	mg/Kg Cr	Difenilcarbazida	0.100		2473.000
MS16	Hierro total	mg/Kg Fe	Triazina	1.00		2556.87
MS22	Niquel total	mg/Kg Ni	Dimetilgloxina	4.00		934.72
MS24	Plomo total	mg/Kg Pb	PAR	0.100		1271.020
MS32	Zinc total	mg/Kg Zn	Cl-PAN	10.00		296.74

¹ Datos proporcionados por el cliente

"Fin del Informe de Ensayo"

Huaraz, 15 de Diciembre de 2022



Merio Leyva Collas
MSc. Quím. Merio Leyva Collas
Administrador del Laboratorio de Calidad Ambiental
FCAM - UNASAM
CQP N° 604



INFORME DE ENSAYO CS220030

CLIENTE Razón Social : *CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA - CARHUAZ - 2021, COMO PONTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTICLA*

Dirección : Huaraz
Atención : Becky Cochachin Soria

MUESTRA Producto declarado : Muestra de Suelo¹
Matriz : Suelos
Procedencia : Punta Olímpica - Carhuaz¹
Ref./Condición : Cadena de Custodia CC210019

MUESTREO Responsable : Muestra proporcionada por el cliente
Referencia : No indica

LABORATORIO Fecha de recepción : 01/Diciembre/2022
Fecha de análisis : 01 de Diciembre - 15 de Diciembre/2022
Cotización N° : CO220520

CÓD.	PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO	LÍMITE DE DETECCIÓN	MUESTRA	
					Código del cliente	M 2
					Fecha de muestreo ¹	29/12/2022
					Hora muestreo	09:00
					Código del Laboratorio	CS220071
FQS ANALISIS FISICOQUIMICO EN SUELOS						
FQS10	pH (en laboratorio)	Unid. pH	NOM21-AS-02		4.98
MS METALES EN SUELOS						
MS01	Aluminio total	mg/Kg Al	Cromoazurof S	4.00		674.33
MS03	Arsénico total	mg/ Kg As	Plata - DDTc	2.00		13.46
MS08	Cadmio total	mg/Kg Cd	Derivé de cadion	0.50		44.96
MS11	Cobre total	mg/Kg Cu	Cuprizona	4.00		24.98
MS12	Cromo total	mg/Kg Cr	Difenilcarbazida	0.100		29.970
MS16	Hierro total	mg/Kg Fe	Triazina	1.00		2807.99
MS22	Niquel total	mg/Kg Ni	Dimetilglioxina	4.00		109.84
MS24	Plomo total	mg/Kg Pb	PAR	0.100		974.030
MS32	Zinc total	mg/Kg Zn	Cl-PAN	10.00		234.77

¹Datos proporcionados por el cliente

Huaraz, 15 de Diciembre de 2022

"Fin del Informe de Ensayo"



Mario Leyva Collas
MSc. Quím. Mario Leyva Collas
Administrador del Laboratorio de Calidad Ambiental
FCAM - UNASAM
CQP N° 604





INFORME DE ENSAYO CS220031

CLIENTE Razón Social : *CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA - CARHUAZ - 2021, COMO POTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA*

Dirección : Huaraz
Atención : Becky Cochachin Soria

MUESTRA Producto declarado : Muestra de Suelo¹
Matriz : Suelos
Procedencia : Punta Olímpica - Carhuaz¹
Ref./Condición : Cadena de Custodia CC210019

MUESTREO Responsable : Muestra proporcionada por el cliente
Referencia : No indica

LABORATORIO Fecha de recepción : 01/Diciembre/2022
Fecha de análisis : 01 de Diciembre - 15 de Diciembre/2022
Cotización N° : CO220520

CÓD.	PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO	LÍMITE DE DETECCIÓN	MUESTRA	
					Código del cliente	M 3
					Fecha de muestreo ¹	29/12/2022
					Hora muestreo ¹	10:00
					Código del laboratorio	CS220072
FQS	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO EN SUELOS					
FQS10	pH (en laboratorio)	Unid. pH	NOM21-AS - 02		4.42
MS	METALES EN SUELOS					
MS01	Aluminio total	mg/Kg Al	Cromoazurol S	4.00		678.30
MS03	Arsénico total	mg/ Kg As	Plata - DDTc	2.00		9.23
MS08	Cadmio total	mg/Kg Cd	Derivé de cadion	0.50		< 0.50
MS11	Cobre total	mg/Kg Cu	Cuprizona	4.00		14.96
MS12	Cromo total	mg/Kg Cr	Difenilcarbazida	0.100		34.910
MS16	Hierro total	mg/Kg Fe	Triazina	1.00		2558.60
MS22	Niquel total	mg/Kg Ni	Dimetilgloxina	4.00		458.85
MS24	Plomo total	mg/Kg Pb	PAR	0.100		733.040
MS32	Zinc total	mg/Kg Zn	CI-PAN	10.00		254.36

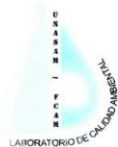
¹ Datos proporcionados por el cliente

"Fin del Informe de Ensayo"

Huaraz, 15 de Diciembre de 2022



Mario Leyva Collas
MSc. Quím. Mario Leyva Collas
Administrador del Laboratorio de Calidad Ambiental
FCAM - UNASAM
CQP N° 604



INFORME DE ENSAYO CS220032

CLIENTE Razón Social : *CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL DE UN CONSORCIO MICROBIANO AISLADO DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS DE LA PUNTA OLÍMPICA - CARHUAZ - 2021, COMO POTENCIAL EN FITORREMEDIACIÓN ASISTICLA*

Dirección : Huaraz
Atención : Becky Cochachin Soria

MUESTRA Producto declarado : Muestra de Suelo¹
Matriz : Suelos
Procedencia : Punta Olímpica - Carhuaz¹
Ref./Condición : Cadena de Custodia CC210019

MUESTREO Responsable : Muestra proporcionada por el cliente
Referencia : No indica

LABORATORIO Fecha de recepción : 01/Diciembre/2022
Fecha de análisis : 01 de Diciembre - 15 de Diciembre/2022
Cotización N° : CO220520

CÓD.	PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	MÉTODO	LÍMITE DE DETECCIÓN	MUESTRA	
					Código del cliente	M 4
					29/12/2022	
					11:00	
						CS220073
FQS	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO EN SUELOS					
FQS10	pH (en laboratorio)	Unid. pH	NOM21 -AS - 02		3.89
MS	METALES EN SUELOS					
MS01	Aluminio total	mg/Kg Al	Cromoazurol S	4.00		14750.00
MS03	Arsénico total	mg/ Kg As	Plata - DDTc	2.00		16.78
MS08	Cadmio total	mg/Kg Cd	Derivé de cation	0.50		250.00
MS11	Cobre total	mg/Kg Cu	Cuprizona	4.00		2000.00
MS12	Cromo total	mg/Kg Cr	Difenilcarbazida	0.100		1750.000
MS16	Hierro total	mg/Kg Fe	Triazina	1.00		125000.00
MS22	Niquel total	mg/Kg Ni	Dimetilglioxina	4.00		5000.00
MS24	Plomo total	mg/Kg Pb	PAR	0.100		10250.000
MS32	Zinc total	mg/Kg Zn	Cl-PAN	10.00		7000.00

¹Datos proporcionados por el cliente

"Fin del Informe de Ensayo"

Huaraz, 15 de Diciembre de 2022



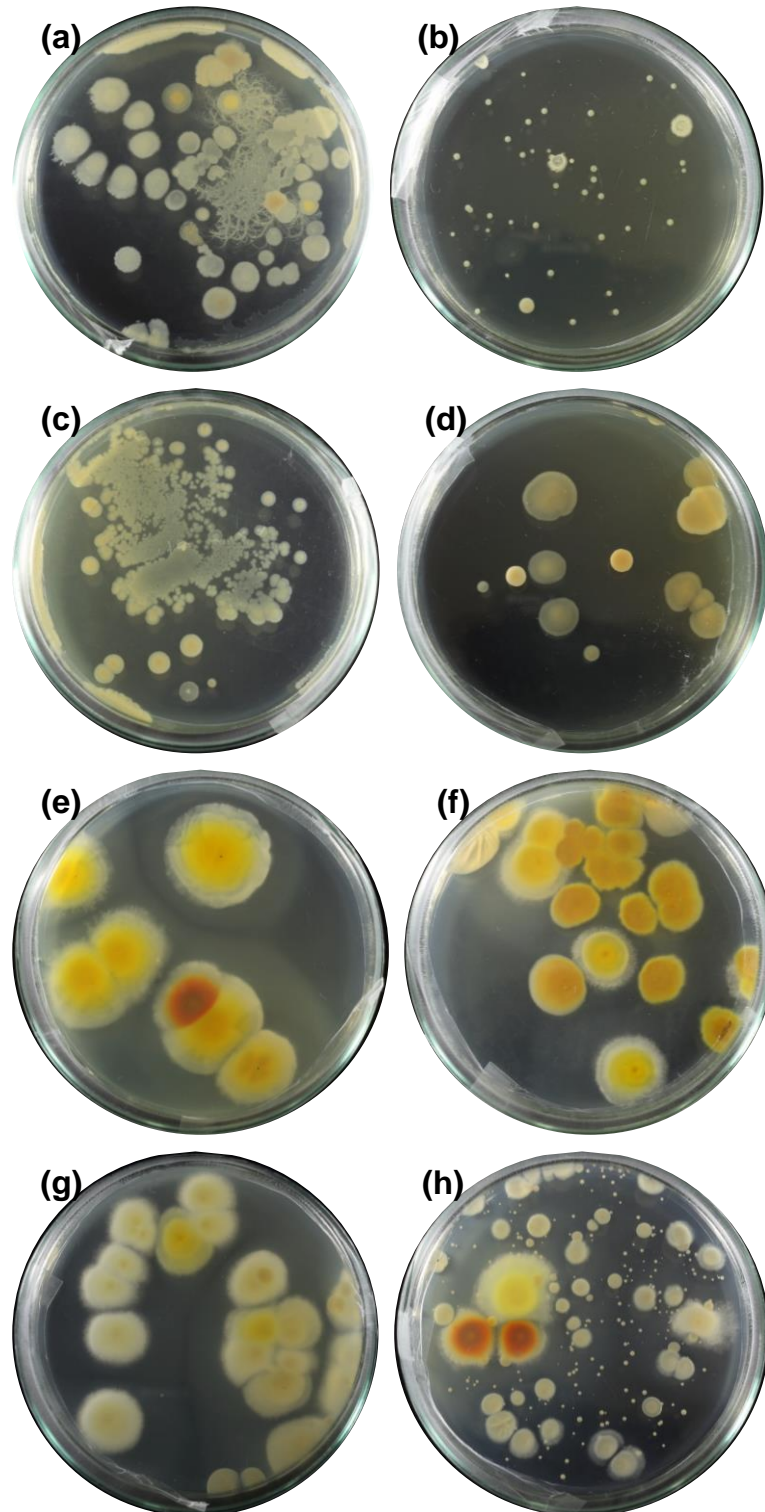
MSc. Q. Quím. Mario Leyva Colias
Administrador del Laboratorio de Calidad Ambiental
FCAM - UNASAM
COP N° 604



ANEXO 5. Panel fotográfico

Figura 23

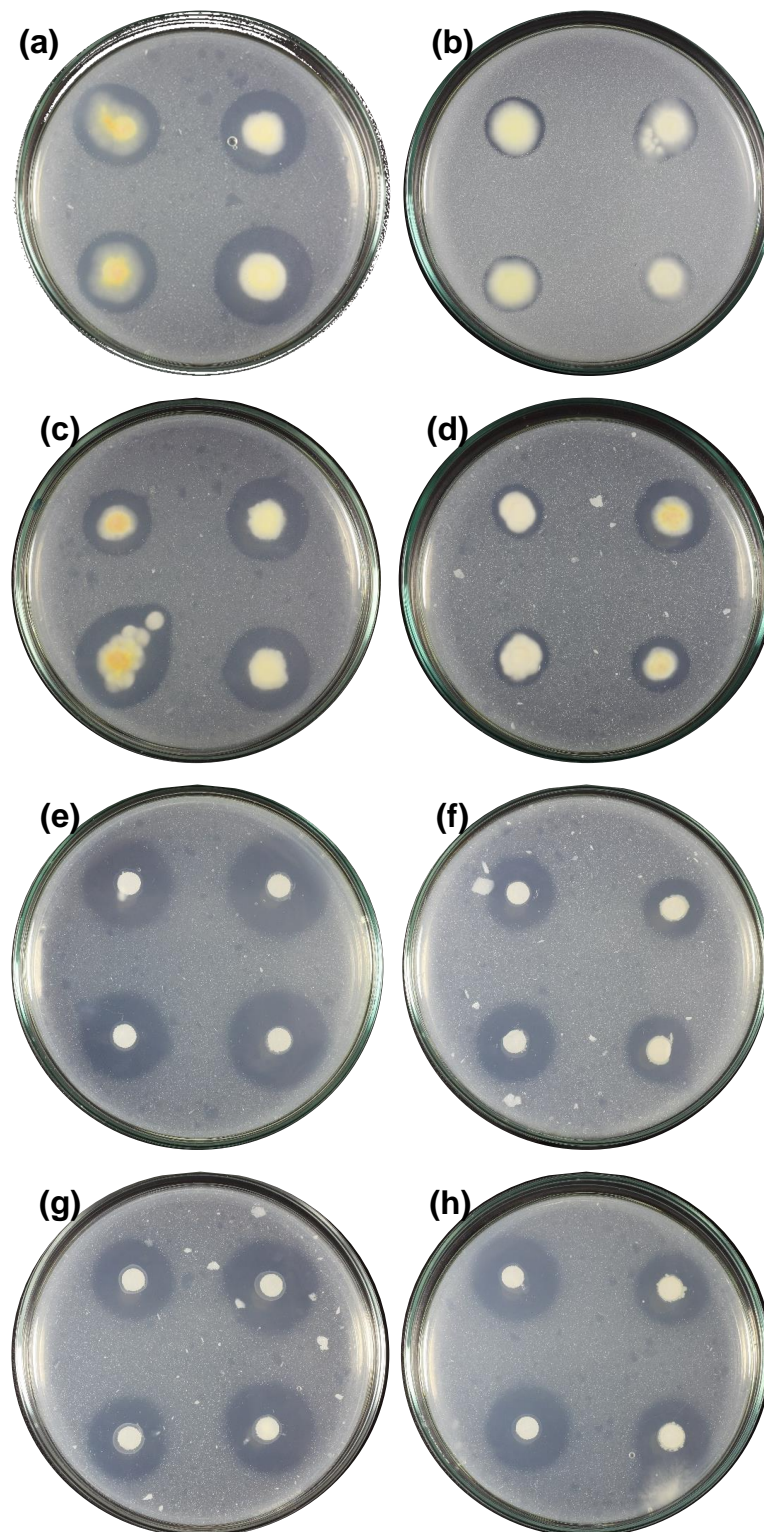
Aislamiento de los consorcios microbianos



Nota. (a): M1B (b): M2B, (c): M3B, (d): M4B, (e): M1H (f): M2H, (g): M3H y (h): M4H.

Figura 24

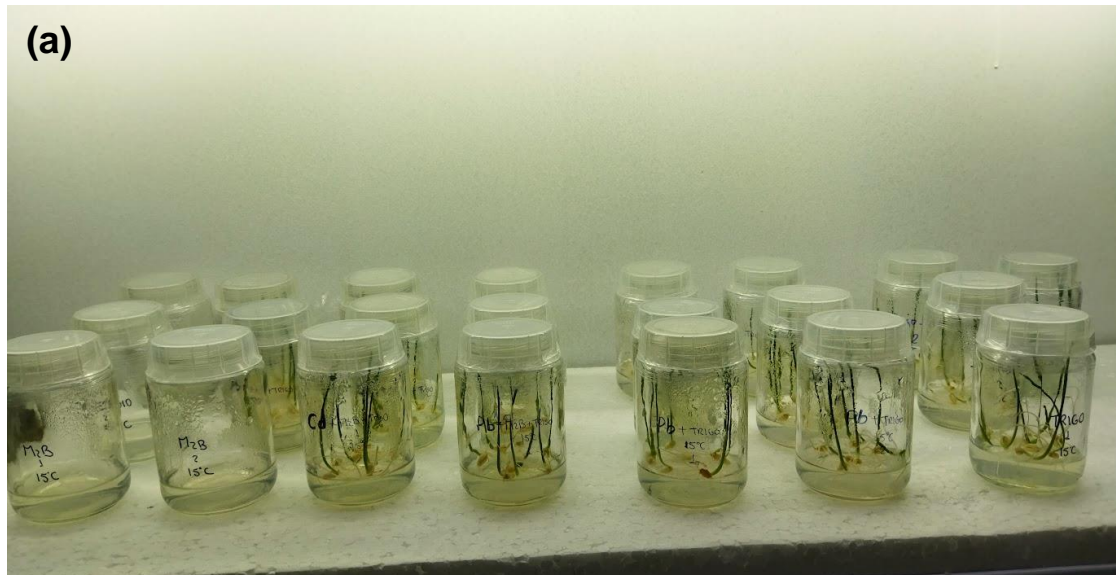
Prueba de solubilización de fosfatos a los consorcios microbianos a 24°C



Nota. (a): M1H y M2H, (b): M3H y M4H, (c): M1H-HM y M2H-HM, (d): M3H-HM y M4H-HM, (e): M1B y M2B, (f): M3B y M4B, (g): M1B-HM y M2B-HM y (h): M3B-HM y M4B-HM.

Figura 25

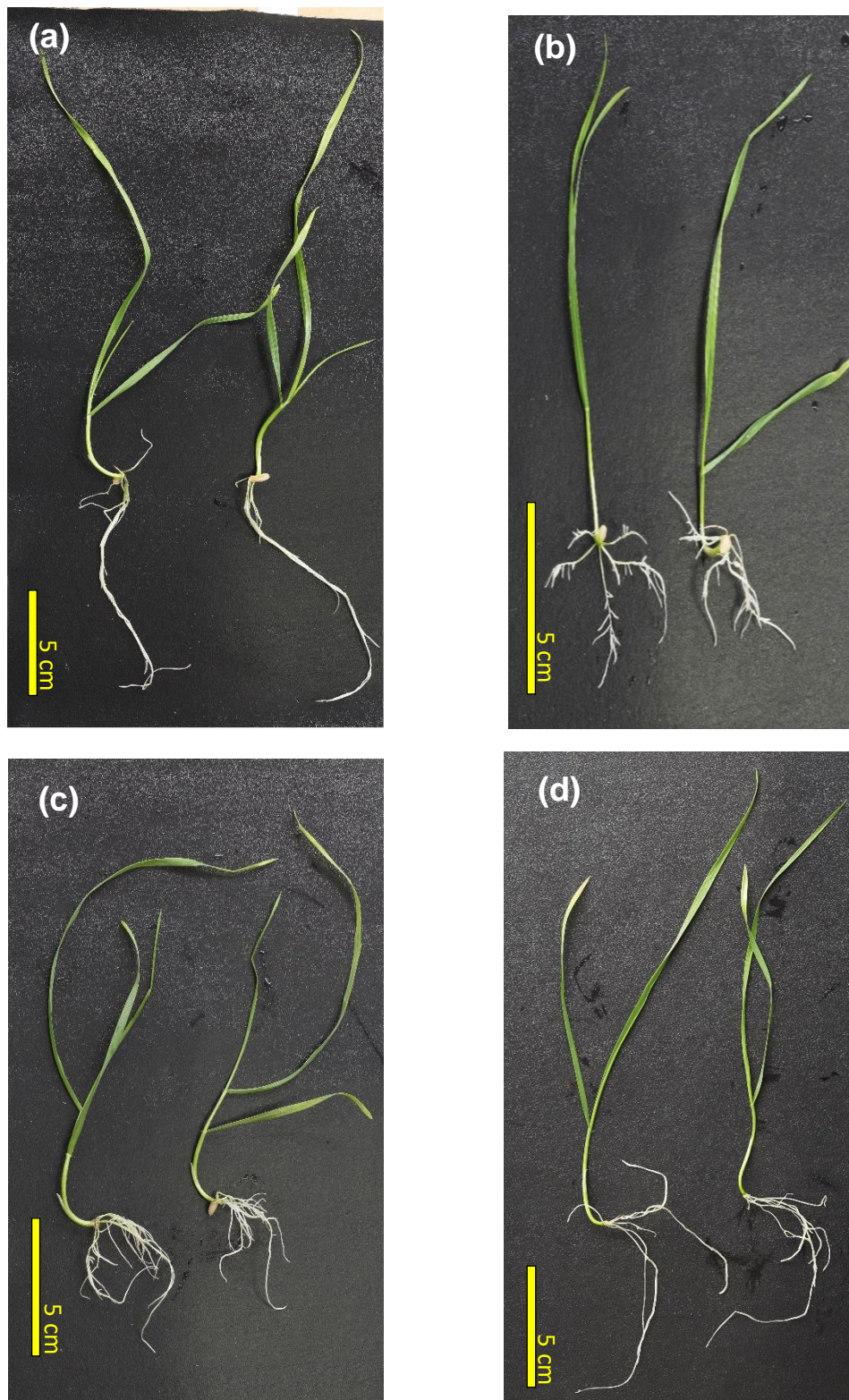
Bioensayo in vitro con trigo inoculado



Nota. (a): Trigo inoculado con M2B, Cd, Pb, Al y los tratamientos M2B+ Cd, M2B+ Pb y M2B+ Al, (b): Trigo inoculado con M3B-HM, Cd, Pb, Al y los tratamientos M3B-HM+ Cd, M3B-HM + Pb y M3B-HM + Al

Figura 26

Comparación de las raíces de trigo a 15°C y 24°C



Nota. (a): Trigo a 24°C, (b): Trigo + M3B-HM a 15°C, (c): Trigo + M3B-HM a 24°C y (d): Trigo + M3B-HM + Al a 15°C

Figura 27

Evidencia de pruebas en laboratorio



Nota. (a): Aislamiento de consorcios del suelo, (b): Traslado de semillas de trigo a las magentas, (c): Peso fresco de raíces y parte aérea del trigo

ANEXO 6. Análisis de varianza (ANOVA) de las diferentes pruebas, mediante la prueba estadística Tukey

Tabla 21

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 24h en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	56638.3	8091.18	8746.3	0
Error	16	14.8	0.93		
Total	23	56653.1			

Tabla 22

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 24h en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	6719.24	959.892	3686.63	0
Error	16	4.17	0.26		
Total	23	6723.41			

Tabla 23

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 48h en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	76767.2	10966.7	15164.54	0
Error	16	11.6	0.7		
Total	23	76778.8			

Tabla 24

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 48h en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	121487	17355.2	5590.12	0
Error	16	50	3.1		
Total	23	121536			

Tabla 25

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 72h en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	47365.5	6766.5	3116.46	0
Error	16	34.7	2.17		
Total	23	47400.2			

Tabla 26

ANOVA de la producción de AIA por consorcios bacterianos a 72h en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	28909.2	4129.89	1007.36	0
Error	16	65.6	4.1		
Total	23	28974.8			

Tabla 27

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 6 días en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	1925.66	275.095	1025.2	0
Error	16	4.29	0.268		
Total	23	1929.96			

Tabla 28

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 6 días en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	965.487	137.927	487.52	0
Error	16	4.527	0.283		
Total	23	970.013			

Tabla 29

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 9 días en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	3699.84	528.549	411.99	0
Error	16	20.53	1.283		
Total	23	3720.37			

Tabla 30

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 9 días en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	7018.4	1002.63	42215.94	0
Error	16	0.38	0.02		
Total	23	7018.78			

Tabla 31

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 12 días en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	28602.5	4086.08	13639.2	0
Error	16	4.8	0.3		
Total	23	28607.3			

Tabla 32

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 12 días en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	6138.21	876.887	6922.8	0
Error	16	2.03	0.127		
Total	23	6140.24			

Tabla 33

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 15 días en 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	145310	20758.5	52664.27	0
Error	16	6	0.4		
Total	23	145316			

Tabla 34

ANOVA de la producción de AIA por consorcios de hongos a 15 días en 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	32339.2	4619.88	49278.71	0
Error	16	1.5	0.09		
Total	23	32340.7			

Tabla 35

ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios bacterianos a 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	1500.28	214.325	147.74	0
Error	16	23.21	1.451		
Total	23	1523.49			

Tabla 36

ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios bacterianos a 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	206.235	29.4622	881.2	0
Error	16	0.535	0.0334		
Total	23	206.77			

Tabla 37

ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios de hongos a 24°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	12509.5	178.07	762.93	0
Error	16	37.5	2.34		
Total	23	12546.9			

Tabla 38

ANOVA de la producción de unidades sideróforas por consorcios de hongos a 15°C

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	0.000035	0.000005	629.95	0
Error	16	0	0		
Total	23	0.000035			

Tabla 39*ANOVA de IFS por consorcios de bacterias a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	4.6967	0.67096	20.85	0
Error	16	0.5149	0.03218		
Total	23	5.2116			

Tabla 40*ANOVA de IFS por consorcios de bacterias a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BACTERIAS	7	4.7989	0.68556	19.86	0
Error	16	0.5524	0.03453		
Total	23	5.3514			

Tabla 41*ANOVA de IFS por consorcios de hongos a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	1.6469	0.23527	16.4	0
Error	16	0.2296	0.01435		
Total	23	1.8765			

Tabla 42*ANOVA de IFS por consorcios de hongos a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
HONGOS	7	9.908	1.41548	19.95	0
Error	16	1.135	0.07097		
Total	23	11.044			

Tabla 43*ANOVA de biomasa fresca de trigo, M2B y M3B-HM a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BLANCO	2	1.81401	0.907006	293.37	0
Error	6	0.01855	0.003092		
Total	8	1.83256			

Tabla 44*ANOVA de materia seca de trigo, M2B y M3B-HM a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BLANCO	2	0.008233	0.004117	266.94	0
Error	6	0.000093	0.000015		
Total	8	0.008326			

Tabla 45*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CADMIO	2	0.359324	0.179662	1678.85	0
Error	6	0.000642	0.000107		
Total	8	0.359966			

Tabla 46*ANOVA de materia seca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CADMIO	2	0.025528	0.012764	451.25	0
Error	6	0.00017	0.000028		
Total	8	0.025698			

Tabla 47*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PLOMO	2	2.16535	1.08267	201.87	0
Error	6	0.03218	0.00536		
Total	8	2.19752			

Tabla 48*ANOVA de materia seca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PLOMO	2	0.006629	0.003315	45.17	0
Error	6	0.00044	0.000073		
Total	8	0.00707			

Tabla 49*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
ALUMINIO	2	0.3468	0.17338	9.06	0.015
Error	6	0.1148	0.01913		
Total	8	0.4616			

Tabla 50*ANOVA de materia seca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 24°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
ALUMINIO	2	0.004159	0.00208	14.11	0.005
Error	6	0.000884	0.000147		
Total	8	0.005044			

Tabla 51*ANOVA de biomasa fresca de trigo, M2B y M3B-HM a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BLANCO	2	0.87805	0.439026	110.88	0
Error	6	0.02376	0.00396		
Total	8	0.90181			

Tabla 52*ANOVA de materia seca de trigo, M2B y M3B-HM a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
BLANCO	2	0.007086	0.003543	70.9	0
Error	6	0.0003	0.00005		
Total	8	0.007386			

Tabla 53*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CADMIO	2	0.489646	0.244823	1753.94	0
Error	6	0.000838	0.00014		
Total	8	0.490483			

Tabla 54*ANOVA de materia seca de trigo+Cd, M2B+Cd y M3B-HM+Cd a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CADMIO	2	0.041451	0.020726	193.41	0
Error	6	0.000643	0.000107		
Total	8	0.042094			

Tabla 55*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PLOMO	2	0.80341	0.401703	75.15	0
Error	6	0.03207	0.005346		
Total	8	0.83548			

Tabla 56*ANOVA de materia seca de trigo+Pb, M2B+Pb y M3B-HM+Pb a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
PLOMO	2	0.00919	0.004595	96.23	0
Error	6	0.000286	0.000048		
Total	8	0.009476			

Tabla 57*ANOVA de biomasa fresca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
ALUMINIO	2	0.96659	0.483297	55.57	0
Error	6	0.05218	0.008697		
Total	8	1.01877			

Tabla 58*ANOVA de materia seca de trigo+Al, M2B+Al y M3B-HM+Al a 15°C*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
ALUMINIO	2	0.02315	0.011575	85.01	0
Error	6	0.000817	0.000136		
Total	8	0.023967			