



UNIVERSIDAD JOSÉ CARLOS MARIÁTEGUI

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS

TESIS

**EFECTO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA REMEDIACIÓN
DE SUELOS AGRÍCOLAS EN TUMILACA – REGIÓN DE
MOQUEGUA**

PRESENTADO POR

Bach. SANTIAGO AUGUSTO GARCIA CORDOVA

ASESOR

Dr. EFREN EUGENIO CHAPARRO MONTOYA

**PARA OPTAR GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

MOQUEGUA – PERÚ

2022

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | pág. |
|---------------------------------|-------------|
| PORTADA | |
| PÁGINA DE JURADOS..... | i |
| DEDICATORIA..... | ii |
| AGRADECIMIENTO..... | iii |
| ÍNDICE DE CONTENIDO..... | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS..... | viii |
| RESUMEN..... | xii |
| ABSTRACT..... | xiii |
| INTRODUCCIÓN..... | xiv |

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

| | |
|---|---|
| 1.1. Descripción de la realidad del problema..... | 1 |
| 1.2. Definición del problema..... | 4 |
| 1.2.1. Problema general..... | 4 |
| 1.2.2. Problema específico..... | 4 |
| 1.3. Objetivos de la investigación..... | 4 |
| 1.3.1. Objetivo general..... | 4 |
| 1.3.2. Objetivos específicos..... | 5 |
| 1.4. Justificación e importancia de la investigación..... | 5 |
| 1.5. Variables..... | 6 |
| 1.5.1. Variable independiente..... | 6 |

| | |
|---|---|
| 1.5.2. Variable dependiente..... | 6 |
| 1.5.3. Variables intervinientes..... | 7 |
| 1.5.4. Operacionalización de las variables..... | 7 |
| 1.6. Hipótesis de la investigación..... | 7 |

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

| | |
|---|----|
| 2.1. Antecedentes de investigación..... | 9 |
| 2.2. Bases teóricas..... | 15 |
| 2.3. Marco conceptual..... | 20 |

CAPÍTULO III

MÉTODO

| | |
|---|----|
| 3.1. Tipo de investigación..... | 22 |
| 3.2. Diseño de la investigación..... | 22 |
| 3.3. Población y muestra..... | 24 |
| 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 24 |
| 3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos..... | 25 |
| 3.6. Metodología..... | 35 |

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

| | |
|--------------------------------------|----|
| 4.1. Presentación de resultados..... | 36 |
|--------------------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 4.1.1. Caracterizar molecularmente de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca--..... | 36 |
| 4.1.1.1. Caracterización molecular de bacterias de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca..... | 36 |
| 4.1.1.2. Caracterización molecular de hongos de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca..... | 36 |
| 4.1.1.3. Caracterización molecular de actinomicetos de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca..... | 38 |
| 4.1.1.4. Caracterización molecular de levaduras de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca..... | 38 |
| 4.1.1.5. Prueba T de muestra unica..... | 39 |
| 4.1.2. Adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica en la remediación de suelos en Tumulaca..... | 39 |
| 4.1.2.1. Conductividad eléctrica (mS/cm)..... | 40 |
| 4.1.2.2. pH..... | 42 |
| 4.1.2.3. Nitrógeno disponible (mg/kg)..... | 43 |
| 4.1.2.4. Fósforo disponible (mg/kg)..... | 46 |
| 4.1.2.5. Potasio disponible (mg/kg)..... | 48 |
| 4.1.2.6. Calcio disponible (mg/kg)..... | 50 |
| 4.1.2.7. Magnesio disponible (mg/kg)..... | 52 |
| 4.2. Contrastación de hipótesis..... | 54 |
| 4.3. Discusión de resultados..... | 55 |

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

| | |
|---------------------------|----|
| 5.1. Conclusiones..... | 72 |
| 5.2. Recomendaciones..... | 73 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 74 |
| ANEXOS | 98 |

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

| | pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Operacionalización de variables | 7 |
| Tabla 2. Principales ventajas y desventajas de remediación..... | 16 |
| Tabla 3. Análisis de varianza para diseño completamente al azar (DCA)..... | 25 |
| Tabla 4. Medios de cultivo para microorganismos..... | 28 |
| Tabla 5. Identificación de microorganismos en laboratorio..... | 32 |
| Tabla 6. Bacterias caracterizados molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos..... | 37 |
| Tabla 7. Hongos caracterizados molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos..... | 38 |
| Tabla 8. Actinomicetos caracterizados molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos..... | 38 |
| Tabla 9. Levaduras caracterizadas molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos..... | 39 |
| Tabla 10. Prueba de T de muestra unica de la caracterización molecular de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumilaca..... | 39 |
| Tabla 11. Análisis de varianza para conductividad eléctrica (mS/cm) en la aplicación de microorganismos..... | 41 |
| Tabla 12. Prueba de significancian de Tukey (T= 0,05) para conductividad eléctrica..... | 41 |
| Tabla 13. Análisis de varianza para pH en la aplicación de microorganismos.... | 43 |
| Tabla 14. Análisis de varianza para nitrógeno disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos..... | 44 |

| | |
|---|----|
| Tabla 15. Prueba de significancia de Tukey (T=0,05) para N disponible..... | 45 |
| Tabla 16. Análisis de varianza para fósforo disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos | 46 |
| Tabla 17. Prueba de significancia de Tukey (T=0,05) para fósforo disponible.... | 47 |
| Tabla 18. Análisis de varianza para potasio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos | 48 |
| Tabla 19. Prueba de significancia de Tukey (T=0,05) para potasio disponible.... | 49 |
| Tabla 20. Análisis de varianza para calcio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos | 50 |
| Tabla 21. Prueba de significancia de Tukey (T=0,05) para calcio disponible..... | 51 |
| Tabla 22. Análisis de varianza para magnesio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos..... | 52 |
| Tabla 23. Prueba de significancia de Tukey (T=0,05) para Magnesio disponible.. | 53 |
| Figura 1. Croquis experimental..... | 22 |
| Figura 2. Metodología de trabajo de investigación..... | 35 |
| Figura 3. Media de microorganismos encontrados en la caracterización molecular..... | 40 |
| Figura 4. Conductividad eléctrica (mS/cm) en aplicación de microorganismos... microorganismos | 41 |
| Figura 5. Media de pH en la aplicación de microorganismos..... | 43 |
| Figura 6. Media de nitrógeno disponible (mg/kg) para la aplicación de microorganismos..... | 45 |
| Figura 7. Media de fósforo disponible (mg/kg) para la aplicación de microorganismos..... | 47 |

| | |
|--|-----|
| Figura 8. Media de potasio disponible (mg/kg) para la aplicación de microorganismos..... | 49 |
| Figura 9. Media de calcio disponible (mg/kg) para la aplicación de microorganismos..... | 51 |
| Figura 10. Media de magnesio disponible (mg/kg) para la aplicación de microorganismos..... | 53 |
| Fotografías A 1. Preparación de microorganismos nativos en Tumulaca..... | 100 |
| Fotografías A 2. Aplicación de materia orgánica a los tratamientos en estudio... | 100 |
| Fotografías A 3. Preparación de concentraciones de microorganismos..... | 101 |
| Fotografías A 4. Evaluación en campo experimental..... | 101 |
| Fotografías A 5. Identificación de microorganismos en placas Petri..... | 102 |
| Fotografías A 6. Microorganismos codificados en laboratorio A&D..... | 102 |
| Fotografías A 7. Microorganismos en laboratorio de Universidad de Tarapacá..... | 103 |
| Fotografías A 8. Microorganismos en placa petri en laboratorio de Universidad de Tarapacá..... | 103 |
| Fotografías A 9. Determinación de ADN por transiluminador..... | 104 |
| Fotografías A 10. Equipo para realizar la amplificación por PCR de ADN..... | 104 |
| Tabla A 1. Conductividad eléctrica (mS/cm) para concentración de microorganismos a los 100 días | 98 |
| Tabla A 2. pH para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 98 |
| Tabla A 3. Nitrógeno disponible (mg/kg) para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 98 |
| Tabla A 4. Fósforo disponible (mg/kg) para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 98 |

| | |
|--|-----|
| Tabla A 5. Potasio disponible (mg/kg) para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 98 |
| Tabla A 6. Calcio disponible (mg/kg) para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 99 |
| Tabla A 7. Magnesio disponible (mg/kg) para concentraciones de microorganismos a los 100 días..... | 99 |
| Tabla A 8. Datos meteorológicos de temperatura máxima y mínima Tumulaca.... | 99 |
| Figura A 1. Resultado de aislamiento de microorganismos nativos..... | 105 |
| Figura A 2. Análisis químico de suelo y conductividad electrica para dosis de microorganismo..... | 106 |
| Figura A 3. Resultado de análisis de laboratorio de compost (materia orgánica) | 107 |
| Figura A 4. Resultado de secuenciación del DNA en macrogen (Korea del sur) de Tumulaca (Perú)..... | 108 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de los microorganismos en la remediación de suelos agrícolas en Tumulaca - Región de Moquegua. Los microorganismos fueron extraídas de la zona El Común; se utilizó la prueba T de una muestra; para la caracterización molecular y un diseño de DCA con siete tratamientos y tres repeticiones, ambos procesos se realizaron de marzo a junio del 2019 en cada tratamientos se aplicaron diferentes concentraciones de soluciones nutritivas de microorganismos T0 (antes de la aplicación), T1 (manejo del agricultor); T2 (1,25 %); T3 (2,50 %); T4 (3,75 %); T5 (5,00 %) T6 (EM1 comercial al 5,00 %) a los 100 días después de la plantación de fresa, Se extrajo una muestra de suelo antes de la plantación. Los resultados muestran la caracterizaron molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos identificándose veintiocho bacterias, siete hongos, dos actinomicetos y dos levaduras, la remediación de suelos con diferentes concentraciones de microorganismos donde bajan la conductividad eléctrica, en cuanto a los análisis químicos de la solución nutritiva a concentraciones de 3,75 %, fueron los mejores en cuanto a la disponibilidad del nitrógeno, potasio, calcio y magnesio y concentraciones de 1,25 y 2,50 % tiene efecto en el fósforo disponible de los suelos de Tumulaca, el pH del suelo no hubo diferencia.

Palabra clave: Caracterización molecular, fresa, microorganismo nativo, remediación de suelo.

ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the effect of microorganisms in the remediation of agricultural soils in Tumilaca - Moquegua Region. The microorganisms were extracted from the El Comun area; the one-sample t-test was used; for molecular characterization and a DCA design with seven treatments and three repetitions, both processes were carried out from March to June 2019, in each treatment different concentrations of nutrient solutions of microorganisms were applied T0 (before application), T1 (management of the farmer); T2 (1,25 %); T3 (2,50 %); T4 (3,75 %); T5 (5,00 %) T6 (commercial EM1 at 5,00 %) at 100 days after planting strawberry. A soil sample was taken before planting. The results show the molecular characterization of the nutrient solution of microorganisms, identifying twenty-eight bacteria, seven fungi, two actinomycetes and two yeasts, the remediation of soils with different concentrations of microorganisms where the electrical conductivity is lowered, in terms of the chemical analysis of the nutrient solution. at concentrations of 3,75 %, they were the best in terms of the availability of nitrogen, potassium, calcium and magnesium and concentrations of 1,25 and 2,50 % have an effect on the available phosphorus of the Tumilaca soils, the pH of the ground there was no difference.

Keywords: Molecular characterization, strawberry, native microorganism, soil remediation.

INTRODUCCIÓN

En la agricultura moderna a raíz de la revolución verde ocurrido en los años 70 del anterior siglo se masificó el uso de fertilizantes, abonos foliares y pesticidas sintéticos con la finalidad de proveer mayor cantidad de alimentos; pero también se ha contaminado el medio ambiente donde especialistas manifiestan que ha conllevado a la aparición de enfermedades al ser humano además que los agricultores tienen dependencia al uso de insumos químicos en detrimento de la degradación de suelos (Singh et al., 2017, p. 3).

Es por ello que se propone con este trabajo de investigación impulsar la aplicación de microorganismos para remediar los suelos de la plantación de fresa mediante la identificación y caracterización de microorganismos obtenidos o producidos en las chacras de los agricultores en la Tumulaca.

Además del uso de microorganismos que son atrapados en el suelo para que posteriormente sean incorporados vía radicular y foliar a las plantas para la producción de alimentos sanos y de mejor calidad que representan una estrategia ecológica como el manejo de nutrientes, plagas y reducir la aplicación pesticida, así como mejorar los rendimientos de los cultivos (Bhattacharyya et al., 2016).

Es por ello que por lo antes descrito el proyecto se enmarca en la línea de la investigación de la Universidad José Carlos Mariátegui en el aprovechamiento sostenible de recursos naturales y ambientales.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad del problema

El cultivo de fresa (*Fragaria ananassa* D.) es plantado a lo largo de la costa peruana y también en la sierra, este fruto es consumida por la población por su balance ácido azucarado que lo hace apetitosa, tiene vitaminas como la A, B y E y antocianinas recomendables para la actividad del cuerpo humano. En Moquegua se ha observado plantaciones del cultivo, pero no aparece en las estadísticas de la Oficina de Información Agraria de la Gerencia Regional de Agricultura Moquegua. El rendimiento a nivel nacional es de 19 446 kg/ha con una plantación de 1 273 ha en las regiones de Apurímac, Arequipa, La Libertad, Lima y Huánuco (SIEA, 2020, p. 8; Ministerio de agricultura, 2008, p. 5 y Restrepo, 2010, p. 1).

Uno de los problemas de los agricultores es el uso desmedido de los pesticidas, los cuales se han convertido en parte integral de la actividad agrícola, los cuales han contribuido a la aparición de enfermedades neurológicas y el cáncer. Existen diferentes formas de ingredientes activos de pesticidas: como granular, polvo humectable o concentrados emulsionados que son absorbidos por

el suelo. Los mismos que han sido aplicados a los cultivos para la producción de alimentos. Su uso excesivo, conduce a una contaminación del suelo, agua y aire. Pudiéndose encontrar residuos en orina o sangre de humanos o mamíferos. Estos compuestos pueden acumularse en los órganos del cuerpo a través de torrente sanguíneo. Se ha demostrado que algunos pesticidas, tales como la rotenona y cipermetrina, son inhibidores o agonistas de enzimas mitocondriales, alterando la función mitocondrial. Estimaciones de organismos mencionan que 12,6 millones de hombres han muerto por 100 enfermedades causadas por entornos no saludables tales como suelos contaminados por pesticidas (La Merrill et al., 2014, p. 1; Bretveld et al., 2006, p. 5; Mahabali y Spanoghe, 2015, p. 188; Collotta et al., 2013, p. 38; Koutros et al., 2016, p. 795; Liu et al., 2017, p. 214; Karami-Mohajeri y Abdollahi, 2013; p. 40, Mnif et al., 2011, p. 2 268 y OMS, 2016, p. 3).

La contaminación del suelo es un tipo de degradación de la tierra que ocurre cuando un rango de componentes naturales o antropogénicos superan el máximo admisible en los entornos naturales del suelo. El uso excesivo de agroquímicos conduce a una contaminación acelerada del suelo ha llevado a una creciente preocupación en relación con los graves efectos negativos a los seres humanos. El 16,1 % de todo el suelo, excedieron las normas recomendadas de calidad de comestibles y la salud humana. Así la contaminación de suelos está sobrellevando a muchos malestares crónicos, como la enfermedad celíaca, la enfermedad cardíaca, el cáncer y la enfermedad de Alzheimer (Wang et al., 2018, p. 71; Palansooriya et al., 2019, p. 10; Kissane y Shephard, 2017, p. 1 294).

La producción y empleo de pesticidas están universalmente regularizados

por los gobiernos. Los propietarios usan 10 veces más pesticidas químicos por acre. El uso en hogares y en cultivos representa el 8, 15 y 10 % del total de herbicidas, insecticidas y fungicidas, respectivamente. La contaminación de los plaguicidas produce la lixiviación en aguas subterráneas, escorrentía superficial, captación de plantas, volatilización y deriva hacia el aire. Los pesticidas son aplicados indiscriminadamente ocurriendo muchos accidentes por vaporización y flotando en las hojas de la hierba o acechando al suelo, a las personas y animales (Pokhrel et al., 2018, p. 534, Grube et al., 2011, p. 4; Bush, 2018, p. 460; Tiryaki y Temur, 2010. p. 29 y Hoover, 2005, p. 10).

Los microorganismos descubiertos por el profesor japonés Teruo Higa en Japón a comienzos de los años 1970 comercializándose bajo el nombre de EM1, las actividades antropogénicas a menudo contribuyen a la contaminación, los microorganismos que habitan en nichos ecológicos extremos han evolucionado y prosperado como consecuencia de la persistencia, la adaptación y la especialización, sirven como reservorios de genotipos y fenotipos especializados; los métodos de reparación biológicos han recibido atención por sus menores costos de operación, eliminación óptima, aumento en los rendimientos a bajas concentraciones. El empleo de microorganismos (tales como bacterias, arqueas y hongos) y las plantas absorber, adsorber y los transforman, Los microorganismos crecer y prosperar en entornos extremos, incluso en un pH ácido o alcalino en altas o bajas temperaturas, en altas concentraciones de contaminantes de sustancias tóxicas, sales etc.; adaptándose a condiciones ambientales desfavorables y proporcionan células, enzimas y sistemas catalíticos, en las áreas de terreno de los agricultores se está realizando las actividades sin restituirles la materia orgánica al

suelo, apareciendo nuevas enfermedades como por ejemplo radicales y están aumentando su incidencia y severidad que están ocasionado pérdidas incalculables a los agricultores (Fathepure, 2014, p. 2; Peeples, 2014, p.2; Alegbeleye et al., 2017, p. 76; Ayangbenro y Babalola, 2017, p. 1; Raddadi et al., 2015, p. 7 909; APROLAB, 2007, p. 10 y Rolli, 2010, p. 2).

1.2. Definición del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de los microorganismos en la remediación de suelos agrícolas en Tumilaca – Región de Moquegua?

1.2.2. Problema específico

¿Cuál será la caracterización molecular de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de suelo en Tumilaca?

¿Cuál será el efecto de la adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica en la remediación de suelo en Tumilaca?

1.3. Objetivo de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de los microorganismos en la remediación de suelos agrícolas

en Tumilaca – región de Moquegua.

1.3.2. Objetivo específico

Caracterizar molecularmente de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de suelo en Tumilaca

Evaluar la adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica en la remediación de suelo en Tumilaca.

1.4. Justificación e importancia de la investigación

La investigación contribuirá a los agricultores del distrito de Samegua, pertenecientes a la provincia de Mariscal Nieto y por supuesto de la región de Moquegua tengan un conocimiento de que una alternativa para hacer que la agricultura sea sostenible; donde se busca que con la preparación de microorganismos por parte de los agricultores en sus campos de cultivos, se pueda aumentar la resistencia por parte de la planta al ataque de hongos patógenos por el incremento de microorganismos nativos (de los suelos de las parcelas que no hayan sido perturbadas por la mano del hombre y maquinaria agrícola existente), comparada con aquellos microorganismos de los campos de cultivo de fresa y de esta manera los agricultores pueden recibir mejores ingresos económicos de sus productos obtenidos en forma orgánica.

Asimismo, la demanda existente en la zona de Moquegua de poder

abastecerse de fresa en sus despensas es mayor por ser un ingrediente para elaborar las loncheras escolares y también de personas jóvenes y adultas debido a que tiene una fuente de antioxidantes en la fresa que hace fácil su consumo además de color, sabor y textura.

La importancia se traduce que agricultores y profesionales peruanos amplíen sus conocimientos y pongan en práctica la metodología de producir en forma natural, con insumos producidos en los fundos de los agricultores, campesinos, son económica y muy accesibles a los agricultores.

1.5. Variables

Para la caracterización molecular de los microorganismos se hará uso del tipo de investigación descriptiva donde se utilizará dos variables de estudio: *variable x*: microorganismos y *variable y*: Remediación de suelos. La influencia del uso de los microorganismos se verá reflejada en la caracterización molecular de las bacterias, hongos, levaduras y actinomicetos. En cuanto a la remediación se analizará en laboratorio para la determinación de las características fisicoquímicas del suelo en cuanto a CE, pH, disponibilidad de N, P, K, Ca y Mg.

1.5.1. Variable independiente (x)

Microorganismos benéficos

1.5.2. Variable dependiente (y)

Remediación de suelo

1.5.3. Variable interviniente

Está dado por las condiciones del medio ambiente; temperatura y humedad relativa

1.5.4. Operacionalización de las variables

La tabla 1 muestra la operacionalización de las variables, tanto de la caracterización molecular de los microorganismos y la adición de diferentes concentraciones de los microorganismos, la remediación del suelo será de acuerdo a la conductividad eléctrica, pH, nitrógeno, fosforo, potasio, calcio y magnesio disponible.

Tabla 1

Operacionalización de variables

| Variables | Dimensiones | Indicadores |
|---------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Variable independiente | | |
| Microorganismo | Concentraciones | % |
| Variable dependiente | | |
| Remediación del suelo | Conductividad eléctrica | mS/cm |
| | Acidez real | pH |
| | N, P, K, Ca y Mg disponible | mg/kg |
| Variable interviniente: T° y HR | | |

1.6. Hipótesis de la investigación

1.6.1. Hipótesis general

La adición de los microorganismos influye en la remediación de suelos agrícolas de Tumilaca de la región Moquegua.

1.6.2. Hipótesis específica

La caracterización molecularmente permitirá determinar los microorganismos presentes en una solución nutritiva de suelo en Tumulaca

La adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica influirá en la remediación de suelo en Tumulaca.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

2.1.1. Caracterizar molecularmente de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de suelo en Tumilaca

En la investigación “Respuesta del suelo y del cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) a la aplicación de lacto fermentos enriquecidos en el sector Querococha Cantón Cevallos, Ecuador”, en el suelo encontró 2 cepas de hongos benéficos (*Arthrobotrys irregularis*) control de nematodos (*Pullularia sp.*) con una población de 6 000 UFC; hubo mejoras en el suelo con 6 cepas de hongos benéficos, el tratamiento F1M3 (Lacto fermentos + EMAs + sulfato de magnesio) presentó variación en el pH observando un promedio de 3,23 reportando 2 cepas de hongos benéficos (*Trichoderma sp*) y (*Acremonium sp*) con 18 000 UFC. Estos hongos cumplieron funciones de antagonismo, descomposición de la materia orgánica (Solís, 2015, p. 13).

En su investigación “Caracterización, identificación y evaluación de

microorganismos autóctonos biorremediadores de suelos contaminados por agroquímicos en la provincia de Loja”, reporto la identificación de ocho géneros con potencial biorremediador en las zonas de cantón Pindal (Loja): el hongo *Mucor circinelloides* F., tiene buenos resultados para el herbicida glifosato en 5 g/l y 1 g/l. *Penicillium chrysogenum* y *Aspergillus uncultured*, tiene resultados para absorción de cipermetrina (Abad, 2017, p. 2).

La investigación de “Caracterización de microorganismos benéficos proveniente de tres pisos altitudinales de Azuay – Ecuador y su influencia en el cultivo de fresa”, realizado en el campus de la UNALM, realizado en dos etapas de campo y uno en laboratorio donde se determinó UFC de levaduras y actinomicetos, en la fase de campo se escogió consorcios microbiano por piso altitudinal; inoculando el suelo y se procedió a plantar la fresa, cada piso altitudinal viven microorganismos benéficos de utilidad ambiental provocando cambios en la rizosfera; beneficiando el desarrollo vegetativo (Álvarez, 2018, p. 30).

En el trabajo denominado “Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotroficas de la rizosfera del cultivo de *Olea europea* Olivo en Tacna Perú”, los resultados son el aislamiento y caracterización de 104 cepas de bacterias diazotróficas, se encontró correlación entre las poblaciones bacterianas con la MO, fosforo y pH del suelo, tiene capacidad de producción de ácido indol acético (AIA) en 58,65 %, solubilizando el fosfato en un 25,96 %. El análisis molecular del gen 16S rRNA reconoció a diferentes microorganismos (Clavijo et al., 2012, p. 1).

El trabajo de investigación “Aislamiento y caracterización molecular de

microorganismos endofíticos asociados a *Valeriana sp.* y *Gentianella weberbaueri Gil* y promotor de crecimiento vegetal”, se caracterizó ocho bacterias, seis hongos; trece se identificaron con el análisis del 16S ADNr y para hongos del ITS molecularmente. La cepa *Rahnella inusitana* VT25B produjo 61,50 ug/ml de AIA e impidió el incremento de *Fusarium oxysporium* en 68 % (Ulloa, 2016, p. 13).

En su investigación “Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional” se clasificaron 353 cepas bacterianas y fúngicas con la ampliación de los genes 16S RNAr, observándose las bacterias más cuantiosas son *Bacillus* 27 %, *Pseudomonas* 8 % y *Stenotrophomonas* 6 %, los géneros fúngicos más cuantiosos son: *Aspergillus* 8 %, *Penicillium* 3 % y *Myrothecium* 3 %. Además, la solubilización del fósforo y producir sideróforos es de 36 y 61 %, solo el 3 % produce celulosa y el 11 % produce B-hemolisis (De los Santos et al., 2018, p. 14).

La investigación “Aislamiento, Caracterización molecular y evaluación de cepas fijadoras de nitrógeno en la promoción del crecimiento de frijol” muestra los resultados que la identificación molecular de la soya corresponde a tres microorganismos, mientras que la jicama corresponde a *Bradyrhizobium japonicum* (INI13-13), estos fueron inoculadas en plántulas de frijol a una suspensión de 10^8 UFC/ml (Ángeles y Cruz, 2015, p. 1).

En la investigación “Caracterización molecular de *Trichoderma spp.* En cultivo de arveja *Pisum sativum L.*” muestra los resultados mediante marcadores RAPDs, la variación molecular es de 26 %, entre las poblaciones de *Trichoderma*

spp., mientras que dentro de las poblaciones fue del 70 % (Checa et al., 2015, p.1).

La investigación “Identificación y caracterización bioquímica, morfológica y molecular de microorganismos cultivables asociados a la rizosfera y al sustrato de plantas de vainilla”, muestra los resultados que al evaluar 44 cepas bacterianas y 8 micóticas. Los hongos *Penicillium griseofulvum* y *Aspergillus fumigatus*, las bacterias identificadas son *Bacillus cereus* y *Serratia sp*, *Pseudomonas koreensis* (Álvarez, 2012, p. 6).

La investigación “Caracterización molecular de actinomicetos provenientes de ecosistemas antárticos” los resultados muestran que diez cepas pertenecen a *Streptomyces fildesensis* GW25-5t, tres cepas a *Streptomyces griseus/streptomyces flavogriseus*, una cepa a *Streptomyces olivochromogenes* y dos últimas cepas a *Streptomyces sannanensis*. Los actinomicetos se acomodan a los escenarios ambientales separados de miles de kilómetros uno del otro (Navas, 2016, p. 14).

En su trabajo de investigación “Caracterización bioquímica y molecular de bacterias asociados a nódulos de cuatro leguminosas en la provincia de Santa Elena Ecuador”, los resultados muestran que mediante técnicas morfológicas bioquímicas y de microscopía electrónica de barrido (MEB) se determinó diez cepas bacilares gram negativas de vertiginoso incremento y características rizo bacterias, tolerantes a salinidad y ha agroquímicos. (Valenzuela, 2018, p. 12).

La investigación “Caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno y su relación con tierras agrícolas del distrito de riego de Repelón, departamento del

Atlántico” los resultados muestran variaciones de los suelos en sus características. El pH varió entre ligeramente ácido de 6,41 y 6,56 a neutro con valores de 6,60 a 7,50. El porcentaje de materia orgánica es alto 2,91 a 6,46 %. El fósforo total del suelo presentó variaciones entre 76,20 a 113 ppm. Se presentaron bajos valores de humedad entre 0,91 a 5,99 %, se evaluó la densidad poblacional de bacterias fijadoras de nitrógeno, la densidad poblacional para la cepa 3 es $1,60 \times 10^8$ UFC/g de suelo, la cepa 2 fue $5,20 \times 10^7$ UFC/g de suelo y la cepa 1 de $4,40 \times 10^7$ UFC/g de suelo. La zona norte presentó mayor población de las cepas 1 y 3, la zona centro mostró mayor población la cepa 2. Las propiedades fisicoquímicas durante la época de ausencia de actividad agrícola, escasez de agua y falta de operación de riego mejoran las propiedades del suelo y son mejores para el establecimiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno (Rojas y Valencia, 2018, p. 12).

2.1.2. Adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica en la remediación de suelo en Tumilaca.

En su investigación “Microorganismos de suelos florícolas contaminados con plaguicidas durante su tratamiento con vermicompost” los resultados muestran el pH más ácido y valores altos de CE, las bacterias y hongos proliferan en mayor cantidad y se adaptan a las condiciones de los plaguicidas, la adición de vermicompost no incrementa la población de bacterias, pero proporciona las condiciones estables para la población de hongos (Palomino, 2019, p. 10).

En su trabajo de su investigación “Ingeniería ecológica: efecto del uso de microorganismos de montaña (MM) sobre el suelo con base a dos cultivos agrícolas”, muestra los resultados muestran que las propiedades físico químicas estuvieron asociados a un aumento en la complejidad de biosistemas de estudio, lo cual fue producto de la introducción de los MM en el patrón de manejo de los cultivos estudiados, producto del ensamblaje de especies en el biofertilizante producto de los tiempos de incubación (Umaña, 2017, p. 4).

La investigación “Efecto de microorganismos eficientes (EM) en la fertilidad del suelo agrícola degradado biológicamente del sector Barraza, Laredo, Trujillo” muestra los resultados que 20 ml de EM con 200 ml de agua presento mejores resultados, por lo tanto, el EM regeneraron la fertilidad del suelo agrícola degradados biológicamente en cuanto a fosforo, materia orgánica, potasio, pH y es igual en CE (Ramos, 2017, p. 8).

En la investigación “Aplicación de enmiendas orgánicas y microorganismos eficientes para la mejora de la calidad del suelo en el anexo 22 – Jicamarca 2018” muestra los resultados una reducción del volumen del contenido de los residuos orgánicos que fueron colocados al comienzo de la investigación y posee una dependencia directa con aumento de las concentraciones de nutrientes N, P, K esenciales para la mejora físico química del suelo y los microorganismos se desarrollan muy rápidamente estimulando la degradación de la materia orgánica (Castillo, 2018, p. 7).

La investigación “Efecto de la aplicación de microorganismos eficaces en

el contenido de cadmio y propiedades fisicoquímicas de un suelo contaminado del distrito de Orcotuna, Concepción, 2017 muestra los resultados que hay disminución del cadmio, el pH se incrementó de 7,98 a 8,09, la conductividad eléctrica (CE), varió de 0,513 a 8,070 dS/m, la materia orgánica varió de 2,51 a 8,80 %, el fósforo disponible del suelo aumentó de 16,43 a 153,57 ppm, el potasio disponible aumento significativamente desde 267,33 a 5 813,33 ppm, la CIC se incrementó con la aplicación con valores de 20,37 hasta 27,31 meq/100 g (Llanos, 2018, p. 10).

En la investigación “Aislamiento y caracterización de microorganismos biocatalizadores de ceniza volcánica en suelos agrícolas de Tungurahua” los resultados muestran bacteria, hongos, levaduras y actinomicetos presentes en la ceniza volcánica y suelo volcánico, los microorganismos fueron caracterizados por observaciones macro y microscópicas y pruebas bioquímicas, se midió parámetros biofísicos de pH, conductividad eléctrica y densidad aparente, se identificaron 27 microorganismos predominando *Bacillus*, *Trichoderma*, *Rhodosporidium* y *Nocardia*, los que mayor eficiencia mostraron fueron *Trichoderma*, *Paecilomyces lilacinus*, *Aureobasidium pullulans* y *Nocardia*. El pH, C.E. y población de microorganismos se vieron afectados por la ceniza (Díaz, 2017, p. 12).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Remediación de suelos

La remediación consiste en un conjunto de técnicas que busca la recuperación de suelos o cuerpos de agua contaminados, con la finalidad de restaurar o mejorar las características de ciertas propiedades de la matriz ambiental, manteniendo la

armonía el ecosistema y evitar riesgo para animales, plantas y seres humanos. Para la remediación de suelos es preciso conocer las características físicas, químicas y microbiológicas, así como la temperatura, radiación solar, pluviometría, es significativo conocer el contaminante a tratar incluso su toxicidad, la efectividad del tratamiento depende de las características del suelo como de los contaminantes (Manual de Legislación Ambiental, s/f, p. 32, Volke y Velasco, 2002, p. 13).

Tabla 2

Principales ventajas y desventajas de remediación

| Tratamiento | Ventajas | Desventajas |
|---------------|---|--|
| Biológicos | <ul style="list-style-type: none"> • Efectividad en costo • Tecnologías benéficas para el ambiente | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor tiempo de tratamiento • Necesaria la verificación de la toxicidad de intermedios o productos |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Los contaminantes son expulsados • Demanda un mínimo o ningún tratamiento posterior | <ul style="list-style-type: none"> • No logran emplearse en suelos que no tengan materia orgánica porque favorece el aumento de los microorganismos |
| Fisicoquímico | <ul style="list-style-type: none"> • Efectivos en costos | <ul style="list-style-type: none"> • Los residuos deben tratarse aumentando en costos y necesidad de permisos |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Pueden hacerse en periodos cortos • El equipo es viable y no necesita mucha tecnología | <ul style="list-style-type: none"> • Los fluidos de extracción pueden acrecentar la movilidad de contaminantes |
| Térmico | | <ul style="list-style-type: none"> • Tratamiento más costoso |

Fuente: Volke y Velazco, 2002.

Los tratamientos se pueden clasificar en tres tipos: a) biológico, es la utilización de organismos, entre ellos plantas, hongos y bacterias, que busca convertir al contaminante en sustancias más simple, b) fisicoquímico se busca mejorar las propiedades del suelo para inmovilizar y/o separa, el objetivo es cambiar la matriz del suelo por arrastre de vapor cambiar la matriz aire, c)

tratamientos térmicos, describen en separar o inmovilizar los contaminantes por una oxidación térmica completa (Peeples, 2004, p. 192).

La remediación también se puede clasificar en convencionales (tradicionales) y no convencionales (innovadoras). Los primeros han sido probados fuera del laboratorio y plantas pilotos; poseen un grado de tecnificación y se encuentran en la región en la cual se requieren. Los segundos son aquellos cuya base se encuentra en los fundamentos teóricos, pero buscan aumentar la eficiencia de remoción y disminuir los tiempos de la remediación (INECC, 2007, p. 14).

2.2.2. Técnicas de remediación

Según The National Academy Press (1993, p. 12), menciona que básicamente se clasifican en:

- Remediación en el lugar (in situ), es el empleo de microorganismos para la remediación de los contaminantes en determinados sitios, es más económico, expeditivo e inequívoco que los demás métodos de descontaminación.
- Remediación ex situ, el tratamiento se realiza en un lugar diferente al lugar en que se encuentran el residuo, dicho lugar no es una planta de tratamiento.

2.2.3. Microorganismos

La tecnología de EM, fue creada por Teruo Higa, doctor oriundo del Japón a mediados de los años 60, empezó la pesquisa de una nueva opción para substituir a los fertilizantes y pesticidas químicos que eran comúnmente usados desde la

segunda guerra mundial y que contaminaban el medio ambiente. En un inicio los ME eran usados como acondicionadores del suelo. EM (Efective Microorganismo), estos son: bacterias fotosintéticas, bacterias de ácido láctico, levadura y actinomicetos (Martí, 2008, p. 65).

Los microorganismos eficientes suelen actuar, donde toman la sustancia que han generado otros organismos de acuerdo a su actividad y desarrollo. Las raíces exudan sustancias usadas por los ME para desarrollarse, lo hacen simplificando aminoácidos, ácidos nucleídos, vitaminas, hormonas y otras sustancias. Los ME incrementa su cantidad, incrementan el dinamismo de los microorganismos, haciendo más grande la microflora equilibrando los ecosistemas y eliminando a microorganismos patógenos existentes en el suelo. Los ME contiene más de 80 especies de microorganismos formas de 10 géneros agrupándose en cuatro: levaduras; son bacterias que hacen uso de las sustancias que emiten las raíces y sintetizan vitaminas y activan microorganismos del suelo (Condori, 2015, p. 13).

Los actinomicetos; son hongos que están controlando a otros hongos y bacterias patógenas, le proporcionan a la planta mayor resistencia al ataque de patógenos a través del contacto de patógenos debilitados. Estas bacterias producen ácido láctico con el cual son capaces de controlar la población de microorganismos patógenos como por ejemplo el Fusarium, a través de la fermentación del estiércol, sirve a las plantas y por ultimo las bacterias fotosintéticas; son microorganismos que utilizan la energía del sol con sustancias producidas por las raíces sintetizar vitaminas y nutrientes para las plantas incrementan el número de microorganismos como los fijadores de N y micorrizas (Añasco y Pinedo, 2005, p. 12).

Los microorganismos también de montaña (MM), son microorganismo de tierra que se encuentran en el ecosistema o entornos naturales, los cuales pueden ser inoculados para mejorar el suelo y los rendimientos de los cultivos, estos microorganismos descomponen la materia orgánica y a la vez combaten a los microorganismos patógenos. Son recicladores de nutrientes, fijan el N del suelo, son capaces de degradar sustancias toxicas como pesticidas, y producen sustancias que mejorar el suelo. Son extraídos de suelos no manipulados por el hombre producen muchos beneficios y bajos costos (Moreno y Velarde, 2016, p. 7).

Los microorganismos eficientes (ME) o microorganismos de montaña (MM) cumplen con las siguientes funciones (Castro, 2011, p. 12):

- Son capaces de degradar la materia orgánica aumentando la disponibilidad de nutrientes al suelo.
- Controlan a microorganismos patógenos que están en el suelo.
- Con capaces de degradar sustancias tóxicas como los pesticidas.
- Aceleran la germinación de semillas y fijan el nitrógeno.

Los ME como inoculante microbiano, son capaces de restablecer el equilibrio microbiológico de los suelos, mejorando las características físico químicas del suelo, incrementando las producciones, aumenta el crecimiento en las plantas y disminuir las plagas y enfermedades ya que los ME ayuda a inducir la resistencia sistemática a patógenos por parte de las plantas, consumen los exudados de las plantas evitando la propagación de patógenos, promueve la formación de la flor, formación de fruto y maduración por sus efecto hormonales en zonas de

crecimiento (meristemáticas) y por último aumenta la capacidad fotosintética. En el suelo mejoran las características físicas químicas y biológicas. Reducen la compactación aumentan los espacios porosos y mejora la filtración del líquido elemento, La parte microbiológica suprime los microorganismos patógenos que están en el suelo y que compiten con los ME y remueve el incremento de los microorganismos benéficos nativos del suelo prosperen (Martí, 2008, p. 34).

2.3. Marco conceptual

2.3.1. Biofermento

Son fermentos líquidos donde la demanda de mano de obra es baja y las diluciones se hacen en porcentajes de cuatro a diez por lo que es más económico (Añasco y Picado, 2005, 67).

2.3.2. Fertilizante orgánico

Es un abono donde tiene ingredientes de guano de animales menores y vacunos ovinos y otros con la adición de malezas y pueden ser líquidos y sólidos (compost) y la adición de microorganismos (Anaya, 2016, p. 13).

2.3.3. Microorganismos eficientes o EMs

Es una combinación de microorganismos benéficos obtenidos en los lugares donde no ha habido la intervención del ser humano; contiene 3 tipos de microorganismos como: bacterias foto trópicas (fijan el nitrógeno y el dióxido de carbono en moléculas orgánicas) Bacterias de ácido láctico (producen ácido láctico a partir de

azúcares) y levaduras que degradan proteínas y carbohidratos (Feican, 2011, p. 14).

2.3.4. Biorremediación

Es el uso microorganismos para evolucionar contaminantes en nada contaminantes para limpiar terrenos o aguas contaminadas. El objetivo es emplear los microorganismos en plantas para retornar un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural (Umrانيا, 2006, p. 13).

CAPÍTULO III

MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

La investigación es aplicada y experimental, porque se manipuló las variables y se sometió a diferentes concentraciones la solución nutritiva de microorganismos.

3.2. Diseño de la investigación

Para la caracterización molecular de microorganismos en la solución nutritiva se utilizó la prueba de T para una muestra, mientras para la remediación de suelos en Tumilaca se utilizó el diseño experimental completamente al azar (DCA); con siete tratamientos y tres repeticiones. El diseño de investigación se realizó conforme a la figura 1.

| | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|
| R1 | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T0 |
| R2 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T0 | T1 |
| R3 | T3 | T4 | T5 | T6 | T0 | T1 | T2 |

Figura 1. Croquis experimental

3.2.1. Tratamientos utilizados en la investigación

T0: Antes de la aplicación de microorganismos

T1: Manejo del agricultor 0,00 %

T2: Microorganismos al 1,25 %

T3: Microorganismos al 2,50 %

T4: Microorganismos al 3,75 %

T5: Microorganismos al 5,00 %

T6: EM1 comercial al 5,00 %

3.2.2. Aleatorización de tratamientos

Se realizó con siete tratamientos y tres repeticiones, con 21 unidades experimentales.

3.2.3. Ubicación

El estudio de microorganismos se desarrolló en la zona de Tumulaca en el anexo del Común perteneciente al distrito de Torata, Provincia de Mariscal Nieto, Región de Moquegua.

3.2.3.1. Ubicación geográfica

Latitud sur : 17° 11' 45''

Longitud oeste : 70° 54' 68''

Altitud : 1 620 msnm

3.2.3.2. Características del área experimental

- Área del terreno : 40,00 m²
- Largo del campo experimental : 10,00 m
- Ancho del campo experimental : 4 m
- Área neta experimental : 21 m²

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

La población quedó conformada por el suelo agrícola en la zona del Común en Tumulaca.

3.3.2. Muestra

Las muestras de suelos fueron recolectadas en un peso de 1 kg por unidad experimental según la operacionalidad de las variables a los 100 días después de la plantación de las plantas de fresa y de cinco aplicaciones de microorganismos (cada 20 días).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Observaciones indirectas

Se utilizó en laboratorio el análisis de salinidad y del análisis químico del suelo para obtener la información cuantitativa en cuanto a la conductividad eléctrica (mS/cm), pH, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio disponible.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

3.5.1. Selección de pruebas estadísticas

Para la caracterización molecular de la solución nutritiva se realizó en el laboratorio de la Universidad de Tarapacá (Arica) y después de obtener los resultados de los microorganismos obtenidos como bacterias, hongos, actinomicetos y levaduras se realizó la prueba de T de una muestra, empleando el programa Statistical Package for the Social Science (SPSS-25).

Mientras que, para los datos obtenidos de la remediación de suelos en cuanto a los análisis de salinidad y análisis químico de las muestras de suelo tratados con diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos, realizados en la Universidad de Tarapacá (Arica) se empleó el análisis de varianza y la prueba de significación el cual en la tabla 3 muestra el análisis de varianza de diseño de DCA; para el análisis se empleó el programa de software de InfoStat.

Tabla 3

Análisis de varianza para diseño completamente al azar (DCA)

| F de V | GL | SC | CM | FC | FT | |
|--------------|----|---|-------------------------|---|------|------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 |
| Tratamientos | 6 | SC _{Trat.} | SC _{Trat} /GL | CM _{Trat} /CM _{error} | | |
| Error | 14 | SC _{Total} -SC _{Trat} | SC _{Error} /GL | | | |
| Total | 20 | SC _{total} | | | | |

Fuente: Montgomery, 2004.

3.5.1.1. Manejo de la investigación.

A. Preparación de área del ensayo.

El área de investigación se realizó en el anexo del Común – Tumulaca, procediéndose a recolectar una muestra de suelo de ocho puntos a una profundidad de 20 cm; el cual se colocó en un balde de 20 litros para proceder a homogenizar el suelo y extraer una muestra de 1 kg de suelo para hacer los análisis químicos y de salinidad, posteriormente se realizó la roturación de terreno y realizar los surcos para proceder a efectuar la plantación de los esquejes del cultivo de fresa.

B. Preparación de microorganismos.

Se realizó el cocido de arroz en una olla colocando 300 g de arroz y agua, en seis envases de plástico de ½ kg de capacidad se colocó el arroz cocido repartiéndolo en partes iguales, luego se tapó los envases con una tela de color blanco sujetándolo con una liga, colocándolo en el pie de un árbol, donde no haiga actividad agrícola a una profundidad de 20 cm, después de siete días se sacaron los envases del suelo para mezclarlo en un envase de plástico de 20 litros de capacidad, donde se añadió 2 kg melaza, 250 gramos de levadura, 2 litros de leche, además se homogenizó con agua de acequia hasta completar 10 litros (llamándolo EM madre), siete días después se colocaron en un envase de 20 litros un litro de EM madre más un kg de melaza, enrazándolo con agua hasta completar los 20 litros de capacidad; luego se tapó el envase y una semana después se encuentra listo para aplicarlo al suelo donde se encuentra el cultivo de fresa (Huacollo, 2018, p. 32).

C. Metodología en laboratorio.

Para la caracterización molecular de la solución nutritiva de microorganismos es la siguiente:

a. Medios de cultivo para bacterias, hongos levaduras y actinomicetos.

En la tabla 4 muestra los medios de cultivo empleados para la caracterización microbiológica de bacterias, hongos, levaduras y actinomicetos para realizar la cuantificación de los microorganismos.

b. Método de siembra microbiológica del suelo.

Se tomaron 10 ml de la muestra nutritiva original, diluyéndolas en esterilidad, agregándole 90 ml de agua destilada estéril. Seguidamente se agitaron las muestras por 5 minutos, para logra la suspensión del suelo en el solvente, la ayuda de una pipeta estéril de 10 ml de capacidad se añadió una cantidad próxima a la dilución y continuar hasta la dilución deseada.

La siembra de las diluciones predeterminadas según el grupo a determinar se realizó por el método de viables por triplicado, se sembró a 1 ml de profundidad, se añadió el medio de cultivo de aproximadamente 20 °C, se agitó la placa en forma horizontal de cinco ciclos a la derecha e izquierda; procurando no derramar. Las incubaciones se desarrollaron según el agar:

Agar Plate Count: 37 °C

Agar TSN en anaerobiosis: 46 °C

Agar Diclorán Rojo de Bengala Cloranfenicol (DRBC): 37 °C

Medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS): 37 °C

Agar Almidón Caseína: 37 °C

Agar Burk: 37 °C

Agar Ramos Callao: 30 °C

Tabla 4

Medios de cultivo para microorganismos

| Organismo | Medio de cultivo |
|---|--|
| Bacterias totales | Cálculo (Aerobios + Anaerobios) |
| Mesófilos aerobios totales | Agar Plate Count |
| Bacterias anaerobias totales | Agar TSN en anaerobiosis |
| Hongos totales | Cálculo (Levaduras + Mohos) |
| Levaduras totales | Agar Diclorán Rojo de Bengala Cloranfenicol (DRBC) |
| Mohos totales | Agar Diclorán Rojo de Bengala Cloranfenicol (DRBC) |
| Lactobacilos y bacterias Ácido lácticas | Medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS) |
| Actinomicetos | Agar Almidón Caseína |
| Fijadores de nitrógeno | Agar Burk |
| Fosfatos mineralizadores | Agar Ramos Callao |
| Fosfato solubilizadores | Agar Ramos Callao |

c. Evaluaciones de las poblaciones microbiológicas en los medios de cultivo.

Agar Plate Count: a las 48 horas se contabilizó la totalidad de las colonias por dilución: Agar TSN en anaerobiosis: a las 24 horas se contabilizó la totalidad de las colonias. Agar Diclorán Rojo de Bengala Cloranfenicol (DRBC): 48 horas, se contabilizó las levaduras y los hongos filamentosos. Medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS): Método del número más probable, se contabilizó los tubos positivos según las diluciones y se contrastaron según la tabla NMP.

Agar Almidón Caseína: a las 72 horas, se contabilizó los actinomicetos emergentes. Agar Burk: a los 10 días. Se contabilizó las diluciones que tengan halo de nitró fijación. Agar Ramos Callao: a las 72 horas, se contabilizó los microorganismos que presentaron halo de solubilizarían del fosfato fijado.

d. Descripción de los medios de cultivo.

El Plate Count Agar fue desarrollado por Buchbinder, Baris y Goldstein. En el PCA (Plate Count Agar), la triptona y el extracto de levadura abastecen las fuentes de N y vitaminas, para el incremento de variedad de microorganismos, la glucosa aporta energía. La transparencia del medio y tamaño de las colonias al crecer facilitan los recuentos bacterianos. La siguiente; hidrolizado pancreático de caseína (Triptona) 5,0 g; extracto de levadura 2,5 g; glucosa 1,0 g; agar-agar 15,0 g y el pH $7\pm 0,2$.

Agar TSN en anaerobiosis: el agar TSN se basa en el aislamiento y recuento de microorganismos anaerobios en cualquier clase de muestras de anaerobiosis. El TSN lleva sales de hierro y las bacterias lo utilizan apareciendo colonias de color negro. Su composición es neomicina sulfato 0,02 g/L; extracto de levadura 10,0 g/L; peptona de caseína 15,0 g/L; agar bacteriológico 13,5 g/L; sodio sulfito 1,0 g/L; hierro (III) citrato 0,5 g/L; polimixina B sulfato 0,05 g/L y el pH final 7,0.

Medio Man, Rogosa y Sharpe (MRS). Preparado de acuerdo con la fórmula de Man, Rogosa y Sharpe, es un medio selectivo indicado para el aislamiento de los lactobacilos. La composición: Peptona de carne 10,00 g; extracto de carne de buey 8,00 g; extracto de levadura 5,00 g; glucosa 20,00 g; fosfato dipotasio 2,00 g; acetato de sodio 5,00 g; citrato triamonio 2,00 g; sulfato de magnesio 0,20 g; sulfato de manganeso 0,05 g; agar-agar 10,00 g; tween 80 polisorbato 1,00 g y pH final: $6,4 \pm 0,2$.

Agar Almidón Caseína, desarrollado por Küster y Williams, para el

crecimiento de actinomicetos. Su composición es a base de almidón 10,0 g; caseína (libre de vitamina) 0,3 g; KNO₃ 2,0 g; NaCl 2,0 g; K₂HPO₄ 2,0 g; MgSO₄ · 7H₂O 0,05 g; CaCO₃ 0,02 g; FeSO₄ · 7H₂O 0,01 g; Agar 15,0 g; agua destilada 1,0 L y pH 7,20.

Agar Burk. Medio carente de fuentes nitrogenadas diseñado para la determinación de microorganismos fijadores de nitrógeno. Su composición es medio de Burk sulfato magnésico 0,2 g; sulfato de hierro 7H₂O 0,005 g; fosfato monopotásico 0,2 g; fosfato bipotásico 0,8 g; molibdato sódico 0,00024 g; glucosa 5 g; agar 20 g; agua 1 000 ml y cloruro cálcico 0,0085 g.

Agar Ramos Callao, medio para fosfato solubilizadores y fosfatos mineralizadores. Su composición es agar nutritivo 22 g; extracto de levadura 2 g; glucosa 20 g; agua esterilizada 1 000 ml y pH 7. Seguidamente para la prueba se realizó el conteo de las placas que contaban entre 30 y 330 colonias, en casos excepcionales se realizaron conteo de dos placas de diluciones consecutivas y se procedió a sacar el promedio. Por morfología de las colonias, se realizó un aislamiento en agar nutritivo, así mismo se realizaron las coloraciones respectivas y las pruebas bioquímicas como se presenta en la tabla 5.

Luego se procedió a realizar la extracción del DNA como sigue: Primeramente, en forma opcional: coleccionar la muestra en un tubo Eppendorf de 1,5 ml y moler el tejido con un pistilo en presencia de nitrógeno líquido. Segundo, agregar 150 µl de Buffer de Extracción y moler el tejido con un pistilo. Tercero, agregar 150 µl más de Buffer de Extracción y 200 µl de fenol-cloroformo y mezclar

en vortex. Cuarto, centrifugar 5 minutos a 12 000 rpm. Quinto, transferir la fase acuosa en un nuevo tubo Eppendorf y precipitar el DNA agregando 2 volúmenes de Etanol al 100 %. Mezclar en vortex. Sexto, centrifugar 5 minutos a 12 000 rpm. Séptimo, eliminar el sobrenadante y agregar 500 µl de ethanol al 70 %. Octavo, centrifugar 1 min a 12 000 rpm.

Noveno, descartar todo el etanol y secar el pellet a temperatura ambiente. Opcional: acelera el proceso en estufa a 37 °C. Decimo, resuspender a 20-30 µl de H₂O. Mezclar en vortex. Onceavo, visualizar el DNA en gel de agarosa al 1 %. Para preparar el gel de agarosa y realizar la electroforesis se realizó la preparación de un gel de agarosa, siguiendo los siguientes pasos: Primer paso, preparar la agarosa de acuerdo al tamaño de los fragmentos de DNA que se esperan. El uso general de agarosa es a una concentración del 1% (P/V), (1gr/100 ml); para fragmentos de DNA de tamaño pequeño (~100-300 pares de bases (pb)) se recomienda una concentración de agarosa del 2 y 3 % P/V. Segundo paso, pesar la cantidad de agarosa a utilizar y transferir a un frasco de vidrio, previamente limpio. Tercero paso, añadir el volumen deseado de solución tampón Tris Borato EDTA (TBE) 0,5X y mezclar. Cuarto paso, Calentar en horno microondas para disolver la agarosa totalmente (se tomará de una coloración translúcida).

Quinto paso, enfriar la agarosa hasta 50 °C ó hasta que la mano de una persona pueda soportar la temperatura del frasco. Sexto paso, preparar el soporte de agarosa sellando los bordes por presión o con cinta adhesiva (esto dependerá del modelo de cámara disponible) y colocar en los peines.

Tabla 5*Identificación de microorganismos en laboratorio*

| Código | Microorganismo | Descripción |
|---------------|-------------------------------|--|
| GPA | <i>Streptomyces sp.</i> | Agar Almidón Caseína, colonia característica y coloración Gram. |
| GPB | <i>Sphingomonas sp.</i> | Agar Nutritivo, no fermentadores, aerobios estrictos, oxidasa y catalasa positiva. |
| GPC | <i>Aquabacterium sp.</i> | Agar Nutritivo, bacterias móviles, en forma de bastón, gramnegativas, oxidasas positivas, catalasas negativas. |
| GPD | <i>Bacillus thuringiensis</i> | Agar Nutritivo, bacilo gram positivo anaerobio facultativo y móvil. |
| GPE | <i>Bacillus mycoides</i> | Agar Nutritivo, bacilo gram positivo no móvil, formador de esporas |
| GPF | <i>Bacillus mycoides</i> | Agar Nutritivo, bacilo gram positivo no móvil, formador de esporas. |
| GPG | <i>Bacillus megaterium</i> | Agar Nutritivo, bacteria formadora de esporas Gram-positivas, aerobia, longitud celular de hasta 4 µm y un diámetro de 1,5 µm. |
| GPH | <i>Bacillus altitudinis</i> | Agar Nutritivo, bacteria formadora de esporas Gram-positivas, aerobia. |
| GPI | <i>Bacillus cereus</i> | Agar Nutritivo, bacteria gram positiva, formadora de esporas centrales, móvil, aeróbio. |
| GPJ | <i>Bacillus thuringiensis</i> | Agar Nutritivo, bacilo gram positivo anaerobio facultativo y móvil, forma inclusiones cristalinas claros al microscopio óptico durante esporulación. |
| GPK | <i>Bacillus altitudinis</i> | Agar Nutritivo, bacteria formadora de esporas Gram-positivas, aerobia. |
| GNA | Enterobacteriaceae | Agar Mac Conkey, bacteria móvil indol negativo, ornitina positiva. |
| GNB | Enterobacteriaceae | Agar Mac Conkey, bacteria móvil indol negativo, ornitina positiva. |
| GNC | <i>Proteus</i> | Agar Mac Conkey, bacterias gram negativas, no fermentan lactosa, TSI negativo. |
| GND | <i>Brevibacillus</i> | Agar Mac Conkey, bacilo gramnegativo, aeróbico y formador de esporas. |
| LA | <i>Saccharomyces</i> | Agar PDA, no utiliza nitratos. |
| LB | <i>Pichia</i> | Agar PDA, morfología de células acuminadas esféricas, elípticas u oblongas, forma ascosporas redondas, hemisféricas o con forma de sombrero. |
| HA | <i>Cladosporium</i> | Agar PDA, Impronta con Azul de lactofenol y reconocimiento con clave taxonómica de hifas y conidias. |

Séptimo paso, verter la agarosa a aproximadamente 50 °C en el soporte de agarosa evitando la formación de burbujas. Si se forman burbujas, se pueden remover usando una punta amarilla (tips). Octavo paso, Dejar que el gel se solidifique a temperatura ambiente (aprox. 15 minutos). El gel sólido tiene una apariencia opaca.

Seguidamente cargar las muestras en gel de agarosa siguiendo el siguiente orden: Primer orden, colocar el gel dentro de la cámara de electroforesis y añadir suficiente TBE 0,5X hasta cubrir completamente el gel. Segundo orden, mezclar el buffer de carga (6X), con las muestras de DNA de interés, luego cargar cuidadosamente la mezcla a los pocillos formados en el gel de agarosa con una micropipeta. Tercero orden, incluir en el gel, marcador de peso molecular (200 ng), mezclado con el buffer de carga. Cuarto orden, conectar el equipo de electroforesis. Quinto orden, prender el equipo, seleccionar el voltaje deseado (aproximadamente 80 voltios), entonces se podrán observar burbujas saliendo de los electrodos. Recordar que el DNA migra hacia el polo positivo.

Sexto orden, correr la electroforesis hasta que las muestras se hayan movido aproximadamente entre la mitad y tres cuartos del gel. Séptimo orden, apagar el equipo. Octavo orden, ver el gel en un transiluminador. El ADN se torna visible cuando se observa en un transiluminador con lámpara de luz ultra violeta. Noveno orden, realizar la toma de fotografías y analizar los resultados obtenidos del gel de agarosa.

Para realizar la amplificación por PCR se añadió los siguientes reactivos a un tubo de PCR de 200 μ l: el DNA templado 1,00 μ l, 10X buffer 2,00 μ l, $MgCl_2$ 2,00 μ l y 10 mm dNTP's Mix 1,00 μ l, Primer Sentido (S1) (10 pmoles/ μ l) 2,0 μ l, primer Anti Sentido (AS1) (10 pmoles/ μ l) 2,0 μ l; taq polimerasa (5U/ μ l) 0,5 μ l, H₂O hasta 20 μ l, Volumen final 20 μ l. El DNA templado se agrega hasta final. Mezclar en vortex y llevar al termociclador con el programa PCR-1, donde se seguirán los siguientes pasos: Paso uno; 95 °C por 5 minutos, paso dos; 95 °C por

30 segundos, paso tres; 55 °C por 30 segundos, Paso cuatro; 72 °C por 50 segundos. Paso cinco; Ir al Paso dos por 35 veces, Paso seis; 72 °C por 2 minutos, Pasó siete; 4 °C hasta retirar las muestras, Paso ocho; Finalizar, con la visualizar los productos de PCR en un gel de agarosa al 1 %. Luego de amplificar, las muestras fueron enviadas a Corea para su secuenciación.

e. Para la remediación de suelos en Tumulaca.

Para la presente tesis se recolectó tres muestras de suelo agrícola del total de área a plantar el cultivo de fresa a una profundidad de 20 cm; en promedio se recolecto un kg de suelo para determinar el análisis químicos y de salinidad del suelo, denominándose (antes de aplicación), después de realizar la plantación de las fresa y hacer cinco aplicaciones de la solución nutritiva de microorganismos cada 20 días a diferentes concentraciones de acuerdo a los tratamientos propuestos; a los 100 días después de la plantación se muestreo cada unidad experimental para recolectar un kilogramo de suelo agrícola realizando el análisis respectivos en la zona de Tumulaca.

En el laboratorio de suelo y agua de la Universidad de Tarapacá se realizó el análisis de conductividad eléctrica (por la metodología de extracto de saturación a 25 °C), pH (potenciómetro), nitrógeno disponible (método Kjeldahl), fósforo disponible (método de Olsen), potasio disponible (fotometría de llama previa extracción en una solución de acetato amónico 1N a pH 7), para calcio y magnesio disponible se realizó por extracción con solución de acetato amónico 1N.

3.6. Metodología

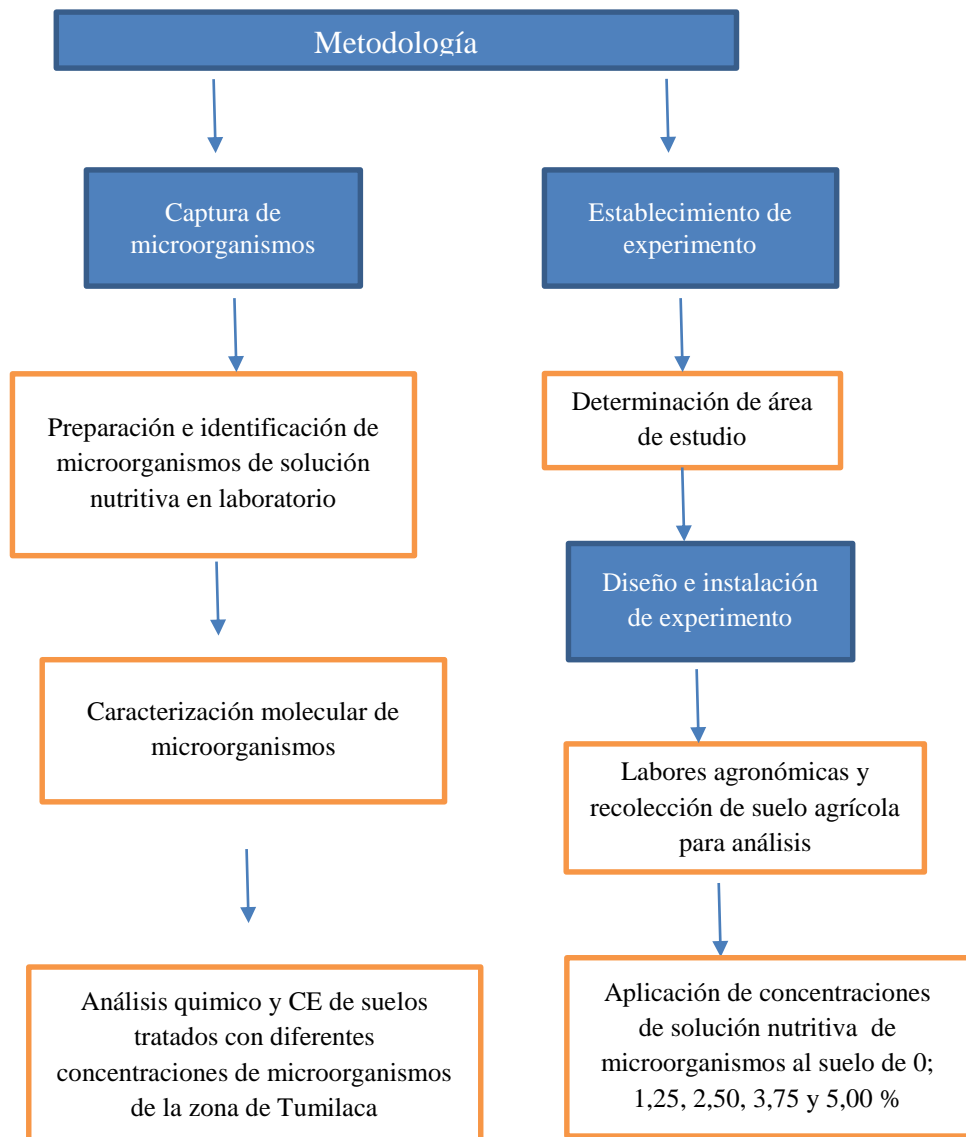


Figura 2. Metodología del trabajo de investigación

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Caracterización molecular de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de suelo en Tumulaca

4.1.1.1. Caracterización molecular de bacterias de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca.

Se analizó la caracterización molecular de bacterias realizados en la universidad de Tarapaca donde se muestra 28 bacterias en la solución nutritiva de microorganismos; doce son gram negativos y dieciséis son bacterias gram positivos además su identificación están dentro de un rango del 100 hasta el 98,55 % presentes en la tabla 6.

4.1.1.2. Caracterización molecular de hongos de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca.

Se analizó la caracterización molecular de hongos realizados en la Universidad de Tarapaca donde se muestra siete hongos de la solución nutritiva de

microorganismos de suelos en Tumilaca que están es de un 100 hasta 98,98 %, como se presentan en la tabla 7.

Tabla 6

Bacterias caracterizadas molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos

| Bacteria identificada | Identificación molecular (%) |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Bacillus aerophilus</i> | 100,00 |
| <i>Bacillus proteolyticus</i> | 100,00 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 100,00 |
| <i>Brevibacillus sp.</i> | 100,00 |
| <i>Sphingomonas sp.</i> | 100,00 |
| <i>Alpha proteobacterium</i> | 100,00 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 100,00 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 100,00 |
| <i>Proteus sp.</i> | 100,00 |
| <i>Eukaryote partial</i> | 100,00 |
| <i>Sphingomonas aquatilis</i> | 100,00 |
| <i>Bacillus pumilus</i> | 100,00 a 99,86 |
| <i>Bacillus mycoides</i> | 100,00 a 99,70 |
| <i>Bacillus altitudinis</i> | 100,00 a 99,55 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 100,00 a 99,16 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 100,00 a 99,04 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 100,00 a 98,67 |
| <i>Aquabacterium sp.</i> | 99,89 a 98,98 |
| <i>Brevibacillus brevis</i> | 99,88 |
| <i>Brevibacillus agri</i> | 99,88 |
| <i>Enterobacter sp.</i> | 99,86 |
| <i>Bacillus pacificus</i> | 99,86 |
| <i>Bacillus toyonensis</i> | 99,86 a 99,70 |
| <i>Bacillus megaterium</i> | 99,85 a 99,53 |
| <i>Bacillus aryabhatai</i> | 99,85 |
| <i>Proteus cibarius</i> | 99,82 |
| <i>Proteus penneri</i> | 99,82 |
| <i>Bacillus aerius</i> | 98,55 |

Tabla 7

Hongos caracterizados molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos

| Hongos identificados | Identificación molecular (%) |
|------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Bacterium sp</i> | 100,00 a 98,98 |
| <i>Fungus sp.</i> | 100,00 a 99,22 |
| <i>Ustilaginoidea virens</i> | 100,00 |
| <i>Cladosporium herbarum</i> | 100,00 |
| <i>Zasmidium cellare</i> | 100,00 |
| <i>Cladosporium sp.</i> | 100,00 |
| <i>Fungus gene</i> | 99,48 a 99,22 |

4.1.1.3. Caracterización molecular de actinomicetos de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca.

Se muestra la caracterización molecularmente realizados en la Universidad de Tarapaca donde hay dos actinomicetos encontrados en la solución nutritiva de microorganismos localizados en la zona de Tumulaca que van desde un 99,88 a 99,77 %, como se presentan en la tabla 8.

Tabla 8

Actinomicetos caracterizados molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos

| Actinomicetos identificados | Identificación molecular (%) |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Streptomyces somaliensis</i> | 99,88 |
| <i>Streptomyces sp.</i> | 99,88 a 99,77 |

4.1.1.4. Caracterización de levaduras de la solución nutritiva de los microorganismos de suelo de Tumulaca.

Se muestra la caracterización molecular de dos levaduras identificadas en la solución nutritiva de microorganismos de la zona de Tumulaca identificado en un 100,00 %, como se presenta en la tabla 9.

Tabla 9

Levaduras caracterizadas molecularmente de la solución nutritiva de microorganismos

| Levaduras identificadas | Identificación molecular (%) |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Pichia occidentalis</i> | 100,00 |
| <i>Pichia sp.</i> | 100,00 |

4.1.1.5. Prueba T de muestra única

Se muestra la prueba de T de una muestra única donde se observa que hay alta diferencia significativa entre muestras de microorganismos, destacando las bacterias con 28 especies caracterizados molecularmente, como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10

Prueba de T de muestra única de la caracterización molecular de la solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumilaca

| Organismos | t | gl | Sig. (bilateral) |
|-------------------|----------|-----------|-------------------------|
| Microorganismos | 10,927 | 38 | 0,000 |

Se muestra la media de la caracterización molecular de microorganismos en los suelos de Tumilaca donde las bacterias identificadas son en número de 28,00 los hongos en 7,00 y los actinomicetos y levaduras son en un número de dos como se observa en la figura 3.

4.1.2. Adición de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los 100 días en una plantación de fresas sobre el análisis químico y conductividad eléctrica en la remediación de suelo en Tumilaca.

Se realizó el análisis de conductividad eléctrica y químico del suelo agrícola antes

de la roturación del terreno agrícola y después de 100 días de plantación del cultivo de fresa en la zona del Común Tumulaca a la aplicación de diferentes concentraciones de la solución nutritiva de microorganismos a los tratamientos en estudio.

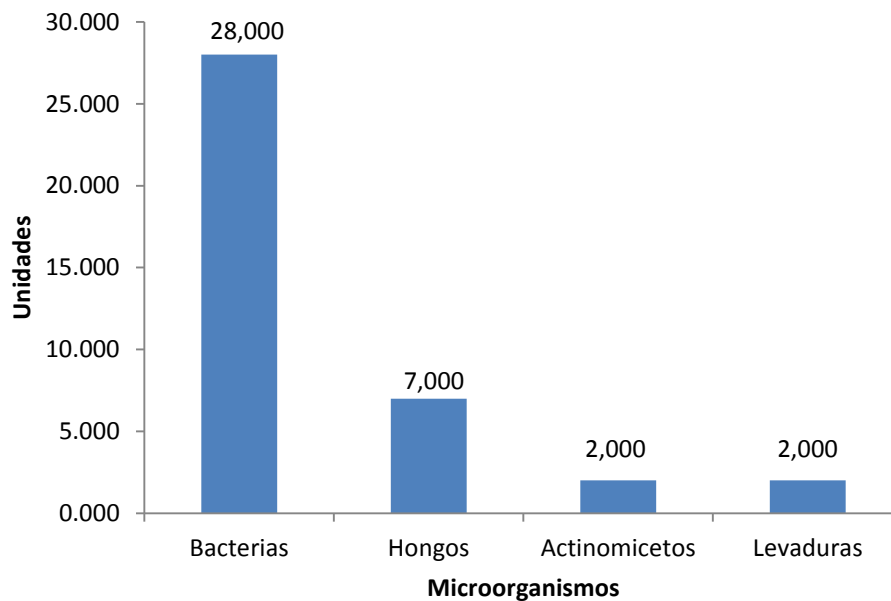


Figura 3. Media de microorganismos encontrados en la caracterización molecular

4.1.2.1. Conductividad eléctrica (mS/cm)

Se muestra el análisis de varianza para conductividad eléctrica, en ella muestra un valor de 15,342 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad, observa en la tabla 11. Para el parámetro conductividad eléctrica rechazamos la hipótesis nula (H_0) y aceptamos la hipótesis alterna (H_a).

Tabla 11*Análisis de varianza para conductividad eléctrica (mS/cm) en la aplicación de microorganismos*

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|--------|--------|---------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 61,849 | 10,308 | 428,232 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0001 |
| Error experimental | 14 | 0,337 | 0,024 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 62,186 | | | | | | |

Nota: CV = 15,342 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

Se muestra la prueba de significación de Tukey para conductividad eléctrica (mS/cm), donde se observa que hay tres grupos definidos, además el tratamiento T0 antes de la aplicación de microorganismos con un valor de 5,200 mS/cm, ocupado el primer lugar en orden de mérito, además tiene diferencia significativa con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar el tratamiento T1 manejo del agricultor con un valor de 0,133 mS/cm que se encuentra en el tercer grupo, como se observa en la tabla 12.

Tabla 12*Prueba de significancia de Tukey (T = 0,05) para conductividad eléctrica*

| N° | Tratamiento | Promedio (mS/cm) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|------------------|-----|-----|
| 1 | T0: Antes de la aplicación | 5,200 | a | 1° |
| 2 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 0,580 | b | 2° |
| 3 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 0,417 | b | 2° |
| 4 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 0,340 | b | 2° |
| 5 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 0,250 | b | 2° |
| 6 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 0,157 | b | 2° |
| 7 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 0.133 | c | 3° |

Se muestra la conductividad eléctrica (mS/cm), con el tratamiento T0 antes de la aplicación de microorganismos se obtiene 5,200 mS/cm que es un suelo moderadamente salino, con la aplicación de microorganismos en concentraciones

de 1,25 a 5,00 % estos valores bajan desde los 0,58 hasta los 0,133 mS/cm (suelos no salinos), son tan eficientes que el EM1 que tiene valor de 0,417 mS/cm, como se observa en la figura 4.

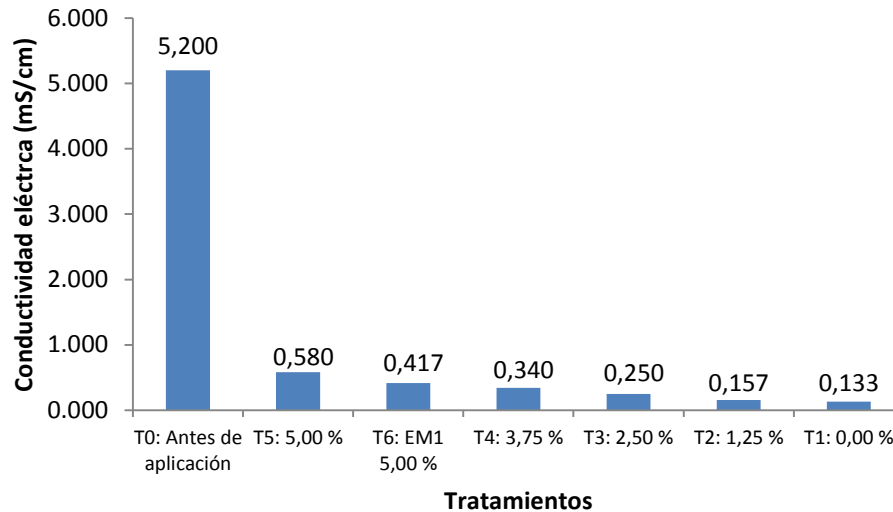


Figura 4. Conductividad eléctrica (mS/cm) en la aplicación de microorganismos

4.1.2.2. pH

Se muestra el análisis de varianza para pH del suelo, en ella muestra un valor de 8,286 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, como se observa en la tabla 13. Para tratamientos no hay diferencia significativa lo que demuestra que hay homogeneidad.

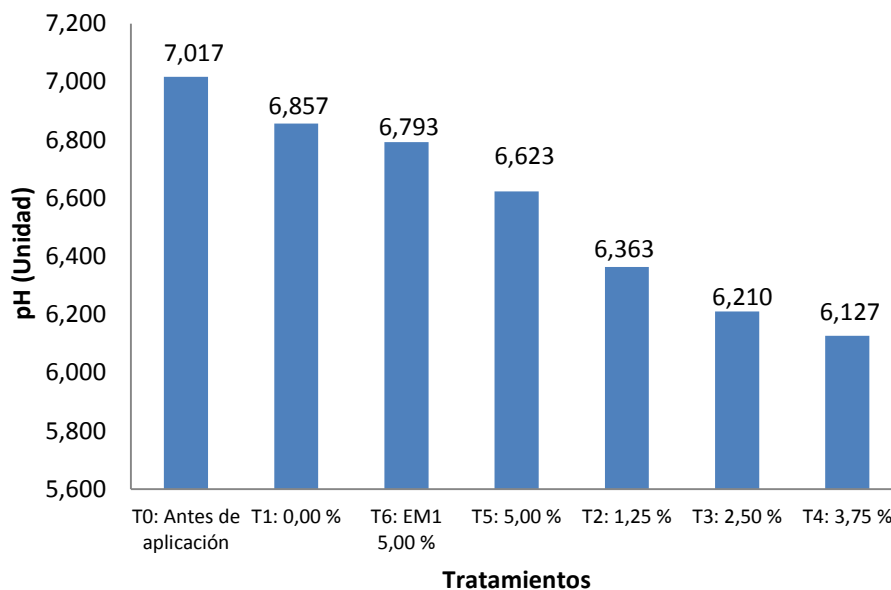
Para el parámetro pH rechazamos la hipótesis alterna (H_a) y aceptamos la hipótesis nula (H_0).

Tabla 13*Análisis de varianza para pH en la aplicación de microorganismos*

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|-------|-------|-------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 2,110 | 0,352 | 1,187 | 2,85 | 4,46 | NS | 0,368 |
| Error experimental | 14 | 4,149 | 0,296 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 6,259 | | | | | | |

Nota: CV = 8,286 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, NS (No significativo)

Se muestra los valores de pH donde se observa que el tratamiento T0 obtiene el mayor valor de pH con 7,017, seguido de los tratamientos T1, T6 con valores de 6,857 y 6,793 quedando en último lugar el tratamiento T4 con un valor de 6,127, como se observa en la figura 5.

*Figura 5.* Media de pH en la aplicación de microorganismos

4.1.2.3. Nitrógeno disponible (mg/kg)

Se muestra la tabla 14 del análisis de varianza para nitrógeno disponible en la

aplicación de microorganismos, en ella obtiene un valor de 13,705 % para el coeficiente de varianza donde los datos son homogéneos, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable para el presente estudio, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad en los datos encontrados en este parámetro de estudio, como se observa en la tabla. En cuanto a la hipótesis para el parámetro nitrógeno disponible, rechazamos la hipótesis nula (H₀) y aceptamos la hipótesis alterna (H_a). Donde podremos afirmar que hay diferencia significativa en los tratamientos en estudio.

Tabla 14

Análisis de varianza para nitrógeno disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | P--valor |
|---------------------|----|-------------|-------------|---------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 773 804,773 | 128 967,462 | 160,107 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0001 |
| Error experimental | 14 | 11 277,120 | 805,509 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 785 081,893 | | | | | | |

Nota CV = 13,705 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

Se muestra la prueba de significación de Tukey para nitrógeno disponible (mg/kg), donde hay tres grupos, además el tratamiento T4 microorganismos al 3,75 % con un valor de 609,500 mg/kg, ocupado el primer lugar en orden de mérito, además tiene diferencia significativa con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar los tratamiento T6 EM1 con 92,767 mg/kg, T5 microorganismos al 5,00 % con 88,307 mg/kg, T1 manejo del agricultor 0,00 % con 65,140 mg/kg y T0 antes de la aplicación de microorganismos con un valor

de 22,013 mg/kg que se encuentra en el tercer grupo, como se observa en la tabla 15.

Tabla 15

Prueba de significancia de Tukey (T =0,05) para nitrógeno disponible

| N° | Tratamiento | Promedio (mg/kg) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|------------------|-----|-----|
| 1 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 609,500 | a | 1° |
| 2 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 317,403 | b | 2° |
| 3 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 254,520 | b | 2° |
| 4 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 92,767 | c | 3° |
| 5 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 88,307 | c | 3° |
| 6 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 65,140 | c | 3° |
| 7 | T0: Antes de la aplicación | 22,013 | c | 3° |

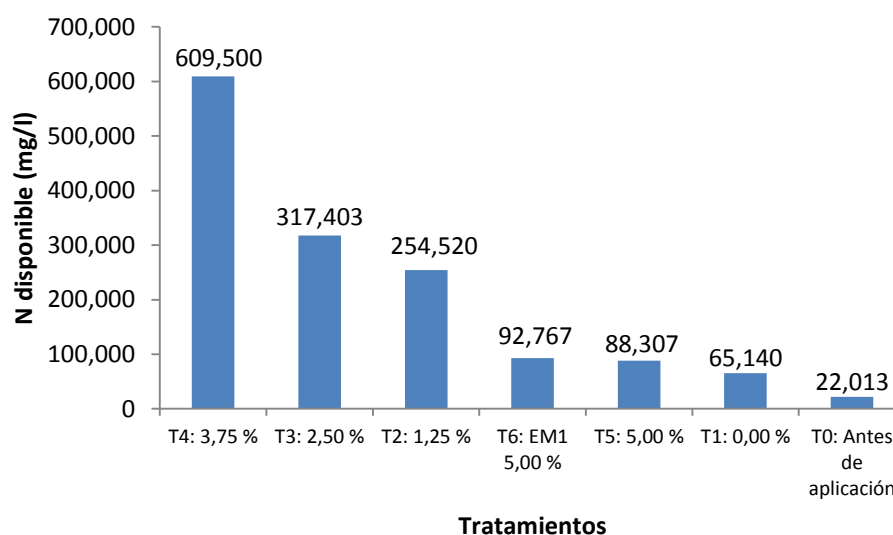


Figura 6. Media de nitrógeno disponible (mg/kg) para aplicación de microorganismos

Se muestra la media de la disponibilidad de nitrógeno (mg/kg), se aprecia que con tratamiento T4 con una concentración de 3,75 % obtiene el mejor resultado con 609,50 mg/kg lo que nos indica que los microorganismos nativos actúan tiene mayor capacidad para mejorar la disponibilidad del nitrógeno en los suelos tratados, seguido del T2 con 317,403 mg/kg, quedando en último lugar el tratamiento T0

antes de la aplicación que la disponibilidad de nitrógeno estaba en valores de 22,013 mg/kg, asimismo podemos observar que el T6 EM1 al 5,00 % obtiene valores de 92,767 mg/kg, como se observa en la figura 6.

4.1.2.4. Fósforo disponible (mg/kg)

Se muestra el análisis de varianza para fósforo disponible, en ella muestra un valor de 9,161 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad, como se observa en la tabla 16. Para el parámetro fósforo disponible rechazamos la hipótesis nula (Ho) y aceptamos la hipótesis alterna (Ha).

Tabla 16

Análisis de varianza para fósforo disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|-----------|---------|--------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 4 503,829 | 750,638 | 28,016 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0001 |
| Error experimental | 14 | 37,110 | 26,794 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 4 878,939 | | | | | | |

Nota: CV = 9,161 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

La prueba de significación de Tukey para fósforo disponible (mg/kg), donde hay tres grupos, además el tratamiento T2 microorganismos al 1,25 % con un valor de 75,960 mg/kg y el tratamiento T3 con un valor de 74,240 mg/kg no hay diferencia significativa entre ellos ocupado el primer lugar en orden de mérito, pero si con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar el T0 antes de

la aplicación de microorganismos con un valor de 33,640 mg/kg que se encuentra en el tercer grupo, como se observa en la tabla 17.

Tabla 17

Prueba de significancia de Tukey (T =0,05) para fósforo disponible

| N° | Tratamiento | Fósforo (mg/kg) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|-----------------|-----|-----|
| 1 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 75,960 | a | 1° |
| 2 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 74,240 | a | 1° |
| 3 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 62,327 | b | 2° |
| 4 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 57,643 | b | 2° |
| 5 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 49,297 | c | 3° |
| 6 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 42,423 | c | 3° |
| 7 | T0: Antes de la aplicación | 33,640 | c | 3° |

Se muestra la media de la disponibilidad de fósforo (mg/kg), se aprecia que el tratamiento T2 con una concentración de 1,25 % y el T3 con una concentración de 2,50 % obtiene el mejor resultado con 75,960 y 74,240 mg/kg respectivamente, seguido del T5 con 62,327 mg/kg, quedando en último lugar el tratamiento T0 antes de la aplicación con valores de 33,640 mg/kg, asimismo podemos observar que el T6 EM1 al 5,00 % obtiene valores de 57,643 mg/kg, como se observa en la figura 7.

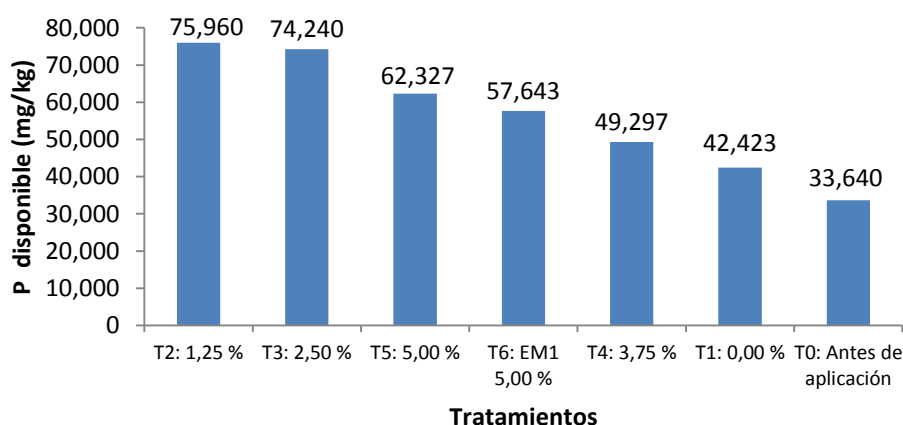


Figura 7. Media de fósforo disponible (mg/kg) para aplicación de microorganismos

4.1.2.5. Potasio disponible (mg/kg)

Se muestra el análisis de varianza para potasio disponible, en ella los valores de 8,198 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad, como se observa en la tabla 18. Para el parámetro potasio disponible rechazamos la hipótesis nula (Ho) y aceptamos la hipótesis alterna (Ha).

Tabla 18

Análisis de varianza para potasio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|--------|--------|---------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 61,849 | 10,308 | 428,232 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0001 |
| Error experimental | 14 | 0,337 | 0,024 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 62,186 | | | | | | |

Nota: CV = 8,198 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

Se muestra la prueba de significación de Tukey para potasio disponible (mg/kg), donde hay cuatro grupos, además el tratamiento T4 microorganismos al 3,75 % con un valor de 1 016,427 mg/kg tiene diferencia significativa con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar los tratamiento T2 microorganismos al 1,25 % con un valor de 550,167 mg/kg, T6 EM1 comercial 5,00 % con un valor de 549,300 mg/kg y T1 manejo del agricultor 0,00 % con un valor de 476,247 mg/kg encontrándose en el cuarto grupo, como se observa en la tabla 19.

Tabla 19

Prueba de significancia de Tukey ($T=0,05$) para potasio disponible

| N° | Tratamiento | Promedio (mg/kg) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|------------------|-----|-----|
| 1 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 1 016,427 | a | 1° |
| 2 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 803,420 | b | 2° |
| 3 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 697,193 | c | 3° |
| 4 | T0: Antes de la aplicación | 677,200 | c | 3° |
| 5 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 550,167 | d | 4° |
| 6 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 549,300 | d | 4° |
| 7 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 476,247 | d | 4° |

En la media de la disponibilidad de potasio (mg/kg), muestra el tratamiento T4 con una concentración de 3,75 % obtiene el mejor resultado con un valor de 1 016,427 mg/kg lo que nos indica que los microorganismos nativos tiene mayor capacidad para mejorar la disponibilidad del potasio en los suelos tratados, seguido del T3 con 803,420 mg/kg, quedando en último lugar el tratamiento T1 manejo del agricultor 0,00 % con un valor de 476,247 mg/kg, asimismo podemos observar que el T6 EM1 al 5,00 % obtiene valores de 549,300 mg/kg, como se observa en la figura 8.

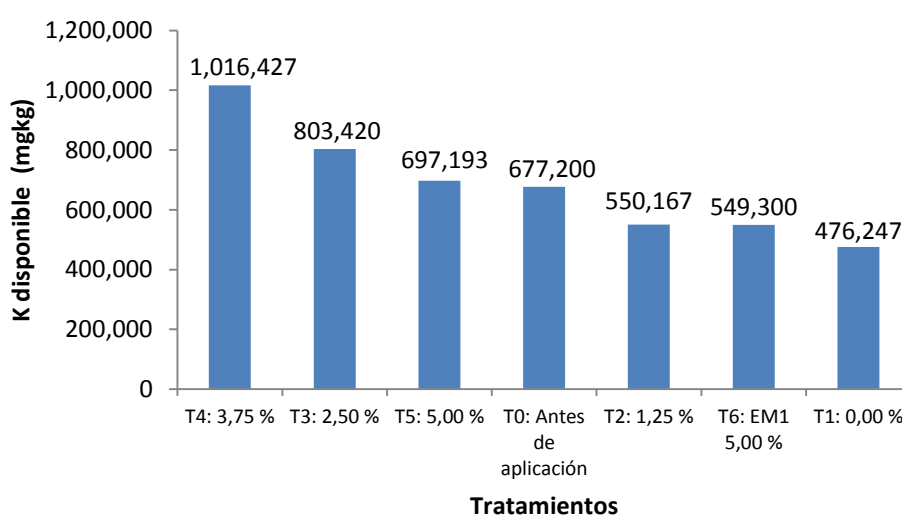


Figura 8. Media de potasio disponible (mg/kg) para aplicación de microorganismos

4.1.2.6. Calcio disponible (mg/kg)

Se muestra el análisis de varianza para calcio disponible, en ella muestra un valor de 3,584 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad, como se observa en la tabla 20. Para el parámetro calcio disponible rechazamos la hipótesis nula (H_0) y aceptamos la hipótesis alterna (H_a).

Se muestra la prueba de significación de Tukey para calcio disponible (mg/kg), donde hay cuatro grupos, además el tratamiento T4 microorganismos al 3,75 % con valor de 4 087,843 mg/kg tiene diferencia significativa con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar los tratamientos T0 antes de la aplicación de microorganismos con un valor de 2 505,770 mg/kg que se encuentra en el cuarto grupo, como se observa en la tabla 21.

Tabla 20

Análisis de varianza para calcio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|-------------------|-----------------|------------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 4 055 058 860,000 | 675 843 143,333 | 51 138,981 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0001 |
| Error experimental | 14 | 185 021,365 | 13 215,812 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 4 055 243 881,365 | | | | | | |

Nota: CV = 3,584 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

Se muestra la prueba de significación de Tukey para calcio disponible (mg/kg), donde hay cuatro grupos, además el tratamiento T4 microorganismos al

3,75 % con valor de 4 087,843 mg/kg tiene diferencia significativa con los demás tratamientos en estudio, quedando en último lugar los tratamientos T0 antes de la aplicación de microorganismos con un valor de 2 505,770 mg/kg que se encuentra en el cuarto grupo, como se observa en la tabla 21.

Tabla 21

Prueba de significancia de Tukey (T = 0,05) para calcio disponible

| N° | Tratamiento | Promedio (mg/kg) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|------------------|-----|-----|
| 1 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 4 087,843 | a | 1° |
| 2 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 3 289,310 | b | 2° |
| 3 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 3 252,247 | c | 3° |
| 4 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 3 228,650 | c | 3° |
| 5 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 3 151,903 | c | 3° |
| 6 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 2 939,127 | c | 3° |
| 7 | T0: Antes de la aplicación | 2 505,770 | d | 4° |

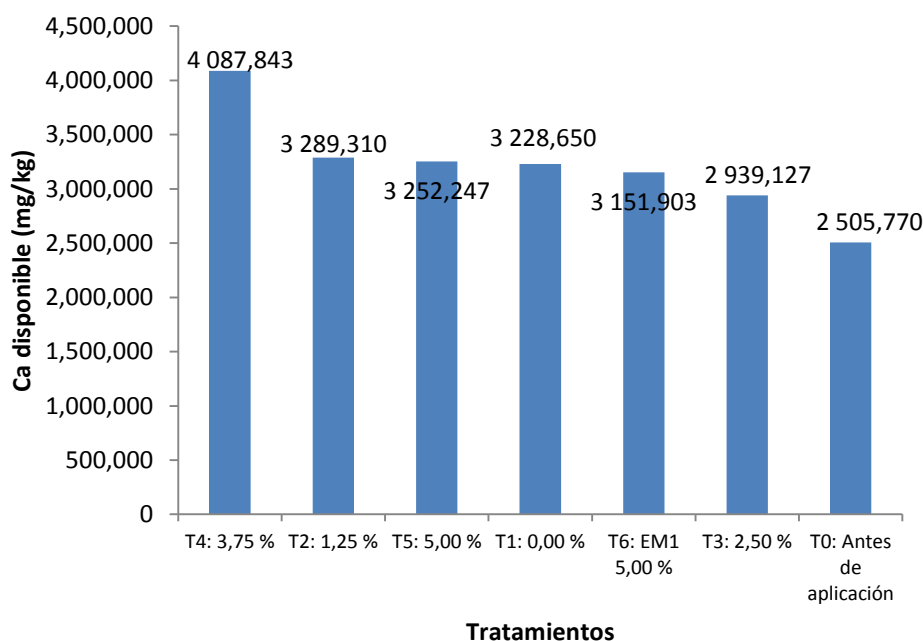


Figura 9. Media de calcio disponible (mg/kg) para aplicación de microorganismos

La media de la disponibilidad de calcio (mg/kg), muestra el tratamiento T4

con una concentración de 3,75 % obtiene el mejor resultado con un valor de 4 087,843 mg/kg, seguido del T2 con 3 289,301 mg/kg, quedando en último lugar el tratamiento T0 antes de la aplicación con valor de 2 505,770 mg/kg, asimismo el T6 EM1 al 5,00 % obtiene valores de 3 151,903 mg/kg, se observa en figura 9.

4.1.2.7. Magnesio disponible (mg/kg).

Se muestra el análisis de varianza para magnesio disponible, en ella muestra un valor de 4,929 % para el coeficiente de varianza, el cual es aceptable para el experimento (Calzada, 1982), demostrando de esta manera que el diseño tiene confiabilidad, además si hay homogeneidad del material experimental utilizado y es aceptable, para tratamientos hay alta diferencia significativa lo que demuestra que hay heterogeneidad, como se observa en la tabla 22. Para el parámetro magnesio disponible rechazamos la hipótesis nula (H_0) y aceptamos la hipótesis alterna (H_a).

Tabla 22

Análisis de varianza de magnesio disponible (mg/kg) en la aplicación de microorganismos

| Fuente de Variación | GL | SC | CM | FC | FT | | Sig | p--valor |
|---------------------|----|-----------|-----------|-------|------|------|-----|----------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | | |
| Tratamiento | 6 | 6 368,204 | 1 061,367 | 8,571 | 2,85 | 4,46 | ** | 0,0005 |
| Error experimental | 14 | 1 733,593 | 123,828 | 0,788 | | | | |
| Total | 20 | 8 101,797 | | | | | | |

Nota: CV = 4,929 %, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = media cuadrática, FC = F calculada, FT = F tabular, Sig = significancia, ** (Altamente significativa)

La prueba de significación de Tukey para magnesio disponible (mg/kg), muestra dos grupos, además el tratamiento T4 microorganismos al 3,75 % con un valor de 264,893 mg/kg tiene diferencia significativa con los demás tratamientos,

quedando en último lugar el tratamiento T3 microorganismos al 2,50 % con un valor de 233,760 mg/kg, T0 antes de la aplicación con un valor de 223,213 mg/kg, T5 microorganismos al 5,00 % con un valor de 218,977 mg/kg, T2 microorganismos al 1,25 % con un valor de 214,310 mg/kg, T6 EM1 comercial al 5,00 % con un valor de 212,827 mg/kg y T1 manejo del agricultor 0,00 % con un valor de 212,477 mg/kg que se encuentran en el segundo grupo, como se observa en la tabla 23.

Tabla 23

Prueba de significancia de Tukey ($T = 0,05$) para magnesio disponible

| N° | Tratamiento | Promedio (mg/kg) | Sig | OME |
|----|----------------------------------|------------------|-----|-----|
| 1 | T4: Microorganismo al 3,75 % | 264,893 | a | 1° |
| 2 | T3: Microorganismo al 2,50 % | 233,760 | b | 2° |
| 3 | T0: Antes de la aplicación | 223,213 | b | 2° |
| 4 | T5: Microorganismo al 5,00 % | 218,977 | b | 2° |
| 5 | T2: Microorganismo al 1,25 % | 214,310 | b | 2° |
| 6 | T6: EM1 comercial al 5,00 % | 212,827 | b | 2° |
| 7 | T1: Manejo del agricultor 0,00 % | 212,477 | b | 2° |

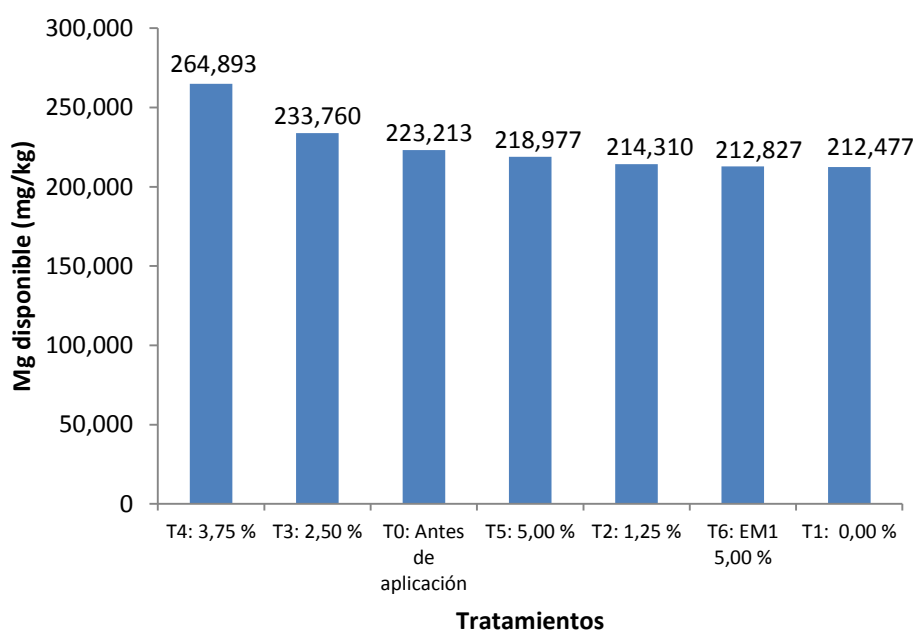


Figura 10. Media de magnesio disponible (mg/kg) para aplicación de microorganismos

Se muestra la media de la disponibilidad de nitrógeno (mg/kg), muestra que el tratamiento T4 con una concentración de 3,75 % obtiene el mejor resultado con 264,893 mg/kg lo que nos indica que los microorganismos nativos tiene mayor capacidad para mejorar la disponibilidad del magnesio en los suelos tratados, seguido del T3 con 233,760 mg/kg, quedando en último lugar el tratamiento T1 manejo del agricultor 0,00 % con valor de 212,477 mg/kg, asimismo podemos observar que el T6 EM1 al 5,00 % obtiene valor de 212,827 mg/kg, como se observa en la figura 10.

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. Hipótesis general

Al concluir con el trabajo de investigación y realizadas las evaluaciones podemos mencionar que los microorganismos tienen efecto en la remediación de suelos agrícolas en Tumilaca - región Moquegua.

4.2.2. Hipótesis específicas

Se ha realizado la caracterización molecular de 39 microorganismos nativos donde influyen en la remediación de suelos de Tumilaca - Región Moquegua, aceptándose la hipótesis alterna.

La aplicación de concentración de microorganismos influye en la remediación de los suelos en los parámetros de análisis de salinidad de conductividad eléctrica y el análisis químico en los parámetros de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio disponible de los suelos en Tumilaca - Región

Moquegua, aceptándose la hipótesis alterna.

4.3. Discusión de resultados

4.3.1. Caracterización molecular de los microorganismos presentes en una solución nutritiva de microorganismos de suelo en Tumulaca

La caracterización molecular de la solución nutritiva de microorganismos de los suelos de Tumulaca está dado por bacterias, hongos, actinomicetos y levaduras que de acuerdo a la prueba de T de una muestra nos muestra que hay alta diferencia significativa a continuación se realiza la discusión.

4.3.1.1. Caracterización molecular de bacterias en una solución nutritiva de los microorganismos de suelo en Tumulaca.

Bacillus mycoides fue aislado de suelo en plantas del cultivo de tomate donde inhibió la actividad nematocida de *Meloidogyne incognita*, además se reportó que producen un biotensión activo en un intervalo de pH de 5 a 9 a temperaturas que varían de 20 a 50 °C, controlando en 38 a 91 % la mancha foliar *Cercospora beticola* Sacc. (Jing et al., 2015, p. 661; Najafi et al., 2005, p. 198; Bargabus et al., 2002, p. 289 y Jacobsen et al, 2004, p. 1 231).

Bacillus megaterium puede solubilizar fósforo inorgánico, aumentando la cantidad de fósforo disponible y promueve el crecimiento de la planta. Controla el hongo *Aspergillus ochraceus* que es una micotoxina que contamina a los alimentos, además resuelve problema de la desnitrificación eliminando el nitrito hasta en un

85 % (Gupta et al., 2020, p. 9; Chan et al., 2009, p. 568 y Junqian et al., 2018, p. 105).

Las formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* controlar larvas de mosquitos (Culicidae, Diptera), considerados como un insecticida muy efectivo, confirmados en estudios efectuados en campo. Este plaguicida es permitido por Europa. En Norte América ha sido permitida su comercialización genéticamente modificada en el año 1994. Para la aplicación del insecticida orgánico hay que añadir materia orgánica al suelo porque podría ocurrir una toxicidad (Lacey, 2007, p. 133; Stevens et al., 2013, p. 9; Wu et al., 2008, p. 1 676; Huang et al., 2016, p. 319 y Zhou et al., 2019, p.148).

En experimentos en macetas, *Bacillus cereus* inhibe la formación de agallas de raíces y reduce la producción de huevos del parásito de la zanahoria y el tomate *Meloidogyne hapla*. Usados también en suelos salinos para aumentar la productividad, en la deshidrogenasa, fosfatasa, el fosforo y el carbono, inhiben organismos patógenos deteriorando los tejidos de los huéspedes, en las personas produce su presencia vómitos y diarreas dependiendo de la toxina producida (Jiyeong et al., 2014, p. 288; Islam et al., 2016, p. 23 y Pitt et al., 2015, p. 165).

En *Bacillus subtilis* presenta una capacidad de producción de surfactina se investigaron como biofertilizantes. Está siendo usado para el control de pesticidas y promotor de crecimiento de planta a nivel de raíz. Asimismo son usados para el control de enfermedades con buen resultado, además tiene actividad antagonista natural e inocuo a una gran cantidad de plantas en el mundo, también es usado para

estimular el aumento de las producciones, y previenen la infección del patógeno, además producen la degradación y el stress biótico y abiótico (Paraszkiewicza et al., 2017, p. 802; Ali et al., 2014, p. 144; Kumbar et al., 2019, p. 1; Goswami et al., 2019, p. 1; Radhakrishan et al., 2017, p. 667, y Tripathi et al., 2012, p. 279).

Evaluación del probiótico *Bacillus Aerius* permite el crecimiento, resistencia a enfermedades y la inmunidad innata de Pla-Mong, induce a la resistencia a enfermedades como en el cultivo de arroz de *Xanthomonas oryzae pv. Oryzae*, además degrada la materia orgánica. Previenen la colonización de las enfermedades, también solubiliza el fosforo. En plumas de pollo han dado muy buenos resultados al descomponerlos y hacer un ambiente más amigable (Meidong, et al., 2017, p. 1; Krishanti et al., 2015, p. 801; De Werra et al., 2009, p. 4 162; Bhari, et al., 2018, p.1 y Ou et al., 2010, p. 8020).

Bacillus proteolyticus inhibe el crecimiento del patógeno *Escherichia coli*, presentan cualidades para producir enzimas con una amplia diversidad biológica, se puede usar para la industria en el cuero, para el procesamiento de los alimentos, producción farmacéutica, en la biorremediación y en la industria textil para eliminar manchas a base de proteínas (Bhaskar et al, 2007, p. 2 759; Gupta et al., 2020, p. 240; Godfrey y West, 1996, p. 3).

Bacillus altitudinis tiene actividad alta en la emulsificación, prometiéndole la estabilidad de biotensioactivo, actividad anti fúngica y uso en la protección del medio ambiente para la biorremediación de agroquímicos, en la cosmetología y en la industria de detergente; tiene actividad contra el cáncer y contra una serie de

hongos y bacterias, se utiliza para aumentar la cantidad de lipasa tanto de la fructosa como la pectona. Son usados en la producción y formación de abonos distribuidos en los animales, plantas y microorganismos (Goswami y Deka, 2019, p. 1; Mohamed et al., 2018, p. 1; Esakkiraj et al., 2012, p. 370 y Bornscheuer, 2002, p. 73).

Bacillus pumilus es usado como anti fúngico donde el papel de la inhibición de las quitinasas demuestra un papel de insecticida donde reduzcan la aplicación de agentes tóxicos en la agricultura; usado también para controlar enfermedades radicales, además de ser un promotor de desarrollo de las plantas. También son usados como antibióticos para combatir una serie de enfermedades bacterianas (Rishad et al., 2016, p. 2; Agarwal et al., 2017, p. 1 y Kusmiatum et al., 2015, p. 27).

Bacillus aerophilus fue usado en restos de industria encontrándose polímeros de azúcar, usados en la industria farmacéutica, agrícola y la alimentación donde tiene efectos probióticos donde llegan al colon y son sustratos para proveer energía. Los alimentos son mejores y con características deseables; estables a pH, temperatura e inhiben la retrogradación del almidón, los alimentos tienen un pH bajo, estabilidad óptima y buenas condiciones ácidas (Cardona y Sánchez, 2007, p. 2415 y Gowdhaman et al., 2014, p. 70).

Los insecticidas organofosforados son usados para combatir plagas de insectos, pero su utilización es indiscriminada aunándose a la contaminación de

grandes nichos ecológicos, *Bacillus aryabhatai*, inutiliza el clorpirifos y parathion hasta un 56 %, los organofosforados son potentes neurotoxinas. Interrumpiendo el funcionamiento del sistema nervioso seguido con parálisis muscular, se puede encontrar en el aire de la estratosfera y también en el suelo como promotor de crecimiento de plantas, tolerantes a sales, metales pesados y a la radiación UV, produce sabores y aromas naturales, también reduce la fitotoxicidad del arsénico (Yang et al. 2006, p. 118; Wen et al., 2015, p. 13 y Ghosh et al, 2018, p. 1).

Bacillus pacificus, bacteria encontrada en fuentes marinas, son resistentes al calor, a la sequedad y otras agencias destructivas (Gordon et al, 1976, p. 291).

Bacillus toyonensis mejoran la respuesta inmune a la vacuna contra el virus herpes en ovinos; la vacuna ha sido utilizada en varias enfermedades. Aunque puede tener problemas adversos cuando son usados como vacunas en microorganismos, aunque las vacunas de ADN son mejores pero su costo alto limita esta práctica, el uso de probióticos de microorganismos vivos confiere efectos benéficos a la salud, usada en la alimentación de los animales aumenta la eficacia de las vacunas (Bandeira et al., 2017, p. 1; Pierrie et al., 2008, p. 273; Huang et al., 2016, p. 180; Demana et al., 2005, p. 46; Williams et al., 2009, p. 237, Erickson y Hubbarb, 2000, p. 403).

Enterobacter cloacae es una bacteria que mejora la producción en arroz además puede usar en la biorremediación de suelos con cromo y mantener la fertilización; mejoró las características de los suelos para asegurar la alimentación y la salud pública, *Enterobacter cloacae* y *Enterobacter aerogenes* son patógenos

oportunistas observándose que el segundo de los nombrados contrarresta la acción del primero, ocupa la cuarta posición en agentes patógenos en el ser humano (Pattnaik, et al., 2020, p. 240 y Hsieh et al., 2009, p. 2).

Enterobacter sp., fue aislado del suelo con potencial promotor de crecimiento de plantas en longitud de raíz, brote, peso seco y fresco, asimismo en la fitorremediación en la absorción del cromo, ayuda a evitar el stress a la planta, a la fijación del nitrógeno, el AIA, el amonio y la producción de cianuro de hidrogeno además permite la solubilización del fósforo mineral. La mejora también se ve reflejada en la biorremediación en la agricultura, promueven la producción de AIA, Citoquinina y promotores del etileno (Gupta et al., 2020, p. 2; Yadav, 2017, p. 2; Liu et al., 2017, p. 3; Ojuederie, y Babalola, 2017, p. 1505).

Aquabacterium sp., mostró capacidad de oxidación del hierro en forma aeróbica y anaeróbica en tratamiento de aguas residuales (Zhang et al., 2016, p. 1).

Sphingomonas aquatilis es una bacteria resistente al cloro del agua potable, identificado mediante el análisis de genes 16S ARNr (Sunab et al., 2013, p. 2).

Eukaryote partial tiene una importancia microbiana durante el transcurso de descomposición que beneficia la identificación de cronologías anteriores a la muerte, aunque intervienen factores abióticos y bióticos en el deterioro, también intervienen en la fotosíntesis en la formación de cloroplastos (Metcalf et al., 2013, p. 2 y Chueca et al., 2002, p. 236).

Proteus vulgaris es un microorganismo que regula el nivel de la urea en el

organismo humano ya que estos tienen problemas renales y obstrucción del tracto urinario las concentraciones altas producen sangrado gastrointestinal y la deshidratación, mientras se bajan produce insuficiencia hepática, síndrome nefrítico y caquexia, los niveles de urea en la sangre y en la orina típicamente están entre 3 y 7 mm, la recuperación de agua residual es un problema del área esencial, una de las fuentes de agua residuales es la orina, 80 % nitrógeno, 50 % fósforo y 9 % de potasio (Ansari et al., 2015, p. 46; Poly et al., 2016, p. 3; Maurer et al., 2006, p. 3 152 y Larsen et al., 2001, p. 193).

Proteus sp, inhibió la descomposición de la madera. La búsqueda de conservantes químicos ha dado lugar a muchas investigaciones sobre el control biológico de la descomposición de la madera, pero no han sido muy efectivos en el área de curativos, con el aumento del pH retardaron el crecimiento de algunos hongos de madera (Onyekweli, 2003, p. 110 y Ejerchi, 1998, p. 533).

Proteus mirabilis, produce infecciones urinarias que es una bacteria que fueron evaluadas morfológicamente, bioquímicamente, se evaluaron diferentes antibióticos contra esta bacteria, donde la acetona resultó con mejor actividad antibacteriana. La infección en el tracto urinario (ITU) es muy común y afecta a individuos cada año, en mujeres es mayor que en hombres esto se debe a la adherencia de la mucosa urotelial o predisposición anatómica, *Proteus mirabilis* es una bacteria Gram negativa es agente causal de la infección al tracto urinario. Es por ello que se están empleando bioactivos de numerosas plantas como terapia para esta bacteria, la bacteria tiene componentes para descontaminar el carbón animal (Dhanasekaran et al., 2019, p 2; Torzewska et al., 2019, p. 81; Oluwafemi et al.,

2017, p.2; Masajtis-Zagajewsha y Nowjcki, 2017, p. 287).

Proteus penneri son enzimas para luchar las enfermedades cardiovasculares que segrega proteasa extracelular, la deposición de coágulos de sangre provocando trombosis, muestran patogenicidad en nuestras aisladas de la orina y son resistentes a las tetraciclinas, es una bacteria Gram negativa común en las infecciones del tracto urinario (Sowmya et al., 2015, p. 2; Rajeev et al., 2012, p. 113; Janda et al., 2001, p. 1 232; Liu et al., 2017, p. 214 y O'Hara et al., 2000, p. 535).

Proteus cibarius, bacteria Gram negativa facultativamente anaeróbica en mariscos, el aislamiento se realizó a una temperatura de 30 °C a un pH de 7 y en presencia de NaCl al 2 % (Dong-Wook et al., 2016, p. 3).

Alpha proteobacterium son gram-negativas aeróbicos, requiriendo sal para su crecimiento, encontrándose en las algas rojas marinas, la bacteria es fijadora de nitrógeno (Díaz y Patel, 2010, p. 1 438; Kurahashi y Yokota, 2007, p. 372).

Brevibacillus agri fue aislada del agua, esta bacteria tiene la particularidad de degradar tetra decano, hexadecano y alcano sulfonato, usado en la recuperación de mejoras del petróleo donde se aumenta la viscosidad del agua inyectada y aumento de la recuperación del petróleo, degradando los hidrocarburos en yacimientos de petróleo, se usa para eliminar dicloro benceno poseyendo alta eficiencia y la operación estable de la bacteria, dicloro benceno para la producción de resina y pesticidas sintéticos, por lo tanto el control biológico y natural es económico y eficaz sino también para el medio ambiente (Yuehui et al., 2014, p.

124; Zhang et al., 2016, p. 2; Bai-ren, et al., 2017, p. 20; Mato et al., 2014, p. 191 y Rene et al., 2015, p. 530).

Brevibacillus brevis se ha convertido en aditivos populares en la pintura, caucho, plástico y textiles y tapicería, capaz de degradar la oxidación terrestre y acuática depurando sedimentos, resultando una alternativa ecológica practica y rentable, esta bacteria vive en las zonas donde hay alta salinidad, alta temperatura y suelos anaeróbicos, son productores de bioactivos, pudiendo afectar la producción de antibióticos (Wei et al., 2015, p. 30; Cristale et al., 2016, p. 12; Ahmad et al., 2018, p. 147; Anupa et al., 2013, p. 42; Sánchez y Demain, 2002, p. 896).

Brevibacillus sp producen la biodegradación en los hidrocarburos (Hadad et al., 2005, p. 1).

4.3.1.2. Caracterización molecular de hongos de la solución nutritiva de los microorganismos de suelo en Tumulaca.

Bacterium sp. Influye en la asimilación del fósforo y el nitrógeno, mejorando el crecimiento de la planta, en leguminosas la simbiosis del nitrógeno requiere una fuente fosforada debido a la alta concentración que requiere el ATP, bacteria que promueven directa o indirectamente el crecimiento de las plantas (Jung et al., 2005, p. 867; Raghothama y Karthikeyan, 2005, p 38; Ditta y Khalid, 2016, p. 3).

Ustilaginoides virens, hongo que causa la enfermedad del falso carbón especialmente en el cultivo de arroz reduciendo la calidad y el rendimiento

poniendo en riesgo la seguridad alimentaria por la producción de micotoxinas. El ciclo de vida del hongo es sexual y asexual. También producen pérdidas cualitativas y cuantitativas en la industria arrocera, el fungicida Propiconazole, inhibe su reproducción en China. El hongo contiene Ustiloxin que es una fitotoxina y micotoxina conocida por ser inhibidor del micro túbulos que es un veneno para humanos y en ganado animales. Infecta el coleóptilo y raíces en el estado de plántula y los estambres filamentos del ovario (Jiehua et al., 2019, p. 200; Zhou et al., 2019, p. 145; Ghabrial y Suzuki, 2009, p. 354).

Cladosporium herbarum elimina los compuestos colorantes de la melaza mediante el uso del frío donde en un pH de 5,5 y temperatura de 20 °C y una concentración de 6 % podría eliminar la contaminación de esta bacteria, mencionan que hay 500 especies distribuidas en bosques, pastizales y campos cultivados (Taskin et al., 2016, p. 2 y Sandra et al., 2003, p. 797).

Zasmidium cellare, hongo que se reproduce en bodegas con alta humedad para metabolizar organismos volátiles, sus contenidos genéticos restantes varían entre eucariotas con tres a 94 genes. Estos genes contienen ADN y ARN donde se transfieren horizontalmente y varían entre especies. Este hongo es conocido en Australia como molde de bodega. Este hongo crece en vapores de alcohol y mejoran la calidad del aire por ello rosean este hongo en el vino (Goodwin et al., 2016, p. 2; Mandl et al., 2010, p. 350 y Tribe et al., 2006, p. 172).

Cladosporium sp., son hongos de origen marino que han demostrado una Prolífica fuente de propiedades biológicas y farmacéuticas. Se ha encontrado

resistencia a meticilina, patógeno nosocomial con aproximadamente 20,000 muertes al año, inhibiendo el crecimiento de meticilina *Staphylococcus aureus* (MRSA), además produce la biodegradación de la lignina (Blunt et al., 2017, p. 238; Wang et al., 2018, p. 72 y De Volder et al., 2013, p. 536).

4.3.1.3. Caracterización molecular de actinomicetos de la solución nutritiva de los microorganismos de suelo en Tumulaca.

Streptomyces somaliensis, resistente al cloro en concentraciones mayores de 0,7 mg L-1, al 100 % de las bacterias. Fue utilizado para agentes antibacterianos dando buenos resultados la combinación de sulfametoxazol y la trimetoprima; son antibióticos que son usados para tratar infecciones en las extremidades inferiores, así como en el cuello y la cabeza. Las infecciones externas son tratadas con antibióticos como sulfonamidas o sulfamidas (Sunab et al., 2013, p. 2; Nasher et al., 1989, p. 266; Gumaa et al., 1986, p. 595 y Mahgoub, 1976, p. 304).

Streptomices sp, se aisló del suelo mostrando actividad anti fúngica contra *Fusarium solani* y *Brasiliensis aspergillu* empleándose como control biológico de hongos en plantas. Solubiliza la quitinasa usados en la agricultura para combatir patógenos en las plantas (Pradeepa et al., 2014, p. 224 y Ordentlich, 1988, p. 85).

4.3.1.4. Caracterización molecular de levaduras de la solución nutritiva de los microorganismos de suelo en Tumulaca.

Pichia occidentalis es levadura conocida como G1 que puede decolorar varios

colores azoicos donde se produce la degradación de enzimas, usados en la industria como las fibras textiles sintéticas, plásticos, cuero, productos alimenticios y cosméticos de papel, los colorantes azoicos son muy coloreadas y la eliminación de estas agua residuales en el medio ambiente son nocivos en especial para los organismos acuáticos reduciendo la solubilidad del oxígeno en el agua causando en humanos la mutagénesis y/o carcinogenicidad, por ello antes de ser eliminadas deben ser tratadas como la absorción, coagulación floculación y la oxidación, sin embargo algunas aminos pueden inhibir la actividad de las bacteria, algunas bacterias tolerantes a sal tiene la capacidad de degradar colorantes (Song et al., 2017, p. 2; Dos Santos et al., 2007, 2 370; De Miranda et al., 2013, p. 362; Crini, 2006, p. 1 062; Ou et al., 2010, p. 8 017 y Meng et al., 2012, p. 96).

Pichia sp, levadura con habilidades de decolorar colorantes azoicos aeróbicamente fue aislado del lodo del mar sobre análisis 18S rDNA para tratamiento de aguas residuales, se estima que casi 300 000 toneladas de colorantes textiles son descargados en el ambiente todo los años caracterizados por uno o más grupos, estos colorantes son tóxicos, cancerígenos y mutagénicos a los organismos vivos, la eficiencia de la decoloración microbiano depende de los microorganismos seleccionados y la degradación de colorantes azoicos se han centrado en hongos, bacterias, actinomicetos y algas, pero muy poco se ha realizado por ver la degradación por parte de las levaduras que podrían soportar pH bajos y alta concentración de sal (Qu et al., 2012, p. 32; Jin et al., 2007, p. 240; Dos Santos et al., 2007, p. 2 370; Wang et al., 2009, p. 655; Saratale et al., 2008, p. 1 422).

Alvares (2018, p. 23) en tres pisos altitudinales de Ecuador ha encontrado 4

bacillus, 3 lactobacillus, 5 actinomicetos, que son diferentes a los encontrados en la presente tesis, donde han sido 28 bacillus 7 hongos, 2 actinomicetos y 2 levaduras; pero Clavijo (2012, p. 1) ha reportado 114 microorganismos en el suelo del cultivo de olivo en la zona de Tacna donde tienen características de producir AIA, solubilización del fosforo, crecimiento en medio mineral sin nitrógeno. Asimismo, Solís (2015, p. 13) reportó 10 hongos los cuales fueron dos hongos benéficos para el control de plaga y nematodo, seis hongos para mejorar el suelo y dos hongos para cumplir la función de antagonismos y descomponer la materia orgánica.

Zapata y Castellano (2019, p. 1) en la identificación de microorganismos en el geiser de Candarave encontró 31 microorganismos, mientras Naquiche (2014, p. 3) en los geiseres de la zona de Calientes solo identifico 2 bacterias. Ulloa (2016, p. 13) aislaron ocho bacterias y seis hongos endófitos, De los Santos et al (2018) mostro la clasificación taxonómica de 353 cepas. Checa et al, (2015, p. 1) realizó la caracterización molecular de poblaciones de *Trichoderma spp.* Navas (2016, p. 14) identifico 7 actinomicetos que se adaptan de ecosistemas antárticos a otras zonas. Valenzuela (2018, p. 12) al realizar la caracterización molecular de los nódulos de leguminosas muestra que se han identificado 10 cepas bacilares gram negativa.

Velázquez, O. (2018, p. 13) identifico molecularmente a 5 bacillus en Bogotá Colombia, para el control de botritis en el cultivo de fresa. Padilla (2013, p. 5) encontró bacillus con UFC en promedio de $3,7 \times 10^2$ y en hongos y levadura de $3,5 \times 10^3$. Abad (2017, p. 2) identifico 8 hongos que adsorben el glifosato como es el *Mucor Circinelloides* F. Mientras que en la presente tesis el *bacillus*

proteobacteria tiene $60,67 \times 10^{12}$, en cuanto a las levaduras *Saccharomices sp.* Alcanzo a tener $12,33 \times 10^2$; en hongos el valor es de 20 UFC/ml. Álvarez (2012, p. 6) evaluó 44 cepas bacterianas y ocho micóticas, además de dos hongos.

Abad (2017, p. 2) reportó que se han identificado ocho géneros de hongos con capacidad biorremediadora. De los Santos et al. (2018, p. 14) muestra la clasificación de 353 cepas bacterianas y fúngicas, además solubilizan el fósforo. Ángeles y Cruz (2015, p. 1) evaluaron las cepas fijadoras de nitrógeno del frejol donde muestran la identificación molecular de cuatro hongos.

4.3.2. Remediación de suelos mediante el análisis de la conductividad eléctrica y químico de los suelos aplicados diferentes concentraciones de la solución nutritiva de los microorganismos de suelos en Tumulaca.

Para el análisis de salinidad de la remediación se tiene la conductividad eléctrica, los microorganismos nativos tienen acción positiva bajando la conductividad de 5,20 mS/cm, moderadamente salino (Báscones, 2004, p. 18) a valores entre 0,580 a 0,1333 mS/cm (no salino). Palomino (2019, p. 10) muestra valores que están entre 0,14 a 3,99 dS/m, los cuales son adecuados en los suelos agrícolas. Llanos (2018, p. 10) manifiesta que la conductividad eléctrica varió de 0,513 a 8,070 dS/m (no salino a moderadamente salino). Ramos (2017, p. 8), menciona que los valores en función a las dosis de EM varían de 3,863 a 3,94 mS/cm (ligeramente salino). Díaz (2017, p. 12), menciona que valores obtenidos en suelos con ceniza y sin ceniza varían de 1,83 a 0,22 mS/cm.

Para el pH que es el logaritmo negativo de base 10 de la concentración de ion hidrogeno (Bazán, 2017, p. 25) los valores obtenidos en la presente tesis están de 7,017 a 6,127 de débilmente ácido a neutro; semejantes a los valores reportados por Rojas y Valencia (2018, p. 12) mientras que Palomino (2019, p. 10) manifiesta que los valores de pH son ácidos. Llanos (2018, p. 12) menciona que el pH se incrementó en suelos que tienen cadmio a valores de 7,98 a 8,09 (medianamente alcalinos). Umaña (2017, p. 4) menciona que el pH vario de 6,02 a 5,7 (moderadamente ácido). Ramos (2017, p. 8) menciona que no hay variación en el pH en la fertilización del suelo en función a la dosis de EM y los valores son de 7,300 a 7,400 (neutro a medianamente alcalino). Díaz (2017) menciona que suelos con ceniza y sin ceniza los valores varían de 5,0 a 6,70 (muy fuertemente ácido a neutro).

Para el nitrógeno disponible los valores obtenidos en la presente tesis son de 609,500 a 22,013 mg/kg, muy alto a medio (Báscones, 2004, p. 22). Ramos (2017, p. 8) menciona que el contenido de materia orgánica es de 1,723 a 3,427 % (bajo a medio). Castillo (2018, p. 7) manifiesta un incremento del nitrógeno con valores de 0,12 a 2,08 %. Díaz (2017, p. 12) menciona que los suelos con ceniza y sin ceniza optimen valores de 18 a 32 ppm (bajo).

Para el fósforo disponible los valores obtenidos en la presente tesis son altos entre 75,960 a 33,640 mg/kg, muy alto (Báscones, 2004, p. 22) se asemejan a Rojas y Valenzuela (2018, p. 12) mencionando que los valores de fósforo del suelo presentan altas concentraciones. Alejo et al. (2012, p. 10) encontró valores de fósforo de 12,40 y 17,20 mg/kg (medio) en suelos no cultivado y en suelo cultivado

respectivamente. Llanos (2018, p. 10) menciona que los valores de fósforo aumentaron de 16,43 a 153,57 ppm (altos). Ramos (2017, p. 8) menciona que en función a la dosis de EM varia de 48,940 a 69,097 ppm (alto). Díaz (2017, p. 12) menciona que suelos con ceniza y sin ceniza obtiene valores de 422 a 145 ppm (alto a óptimo).

Para el potasio disponible los valores obtenidos en el presente trabajo son valores muy altos entre 1 016,427 a 476,247 mg/kg, muy alto (Báscones, 2004, p. 26). Alejo et al. (2012, p. 10) encontró valores de 586 y 542 mg/kg (muy altos), en suelos no cultivados y suelos cultivados respectivamente. Llanos (2018, p. 10), menciona que los valores aumentaron de 267,33 a 5813,33 ppm (valores altos). Ramos (2017, p. 8) menciona que en función a las dosis de EM los valores varían de 690,150 a 747,540 ppm (alto). Díaz (2017, p. 12) menciona que los valores con ceniza y sin ceniza varían de 766 a 450 ppm (alto a óptimo).

Para el calcio disponible los valores obtenidos en el presente trabajo son de alto a medio con valores de 4 087,843 a 2 505,770 mg/kg, muy alto a medio (Báscones, 2004, p. 34). Alejo et al. (2012, p. 10) encontró valores de 4 172 y 3 631 mg/kg (medio), en suelos no cultivados y suelos cultivados respectivamente. Díaz (2017, p. 12) menciona que en suelos con ceniza y sin ceniza los valores son de 5986 a 3258 ppm (alto).

Para el magnesio disponible los valores obtenidos en el presente trabajo son muy altos con valores de 264,893 a 212,477 mg/kg, muy alto (Báscones, 2004, p. 37). Alejo et al. (2012, p. 10) encontró valores de 513 y 420 mg/kg (muy altos) en

suelos no cultivados y suelos cultivados respectivamente. Díaz (2017, p. 12) menciona que en suelos con ceniza y sin ceniza los valores son de 960 a 398 (alto a óptimo).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Primera. Se evaluó el efecto de los microorganismos en la remediación de suelos agrícolas en Tumulaca, cuyos resultados indican la eficiencia en la conductividad eléctrica, nitrógeno, fosfor, potasio, calcio y magnesio.

Segunda. Mediante la caracterización molecular de la solución nutritiva de microorganismos, se ha reportado 39 microorganismos; 28 bacterias, siete hongos, dos actinomicetos y dos levaduras; al realizar la prueba de T de una muestra alta significancia de la presencia de los microorganismos en el suelo de Tumulaca.

Tercera. Los microorganismos con una concentración de 3,75 % alcanzan 609,50 mg/kg, para fósforo disponible los microorganismos a una concentración al 1,25 y 2,50 % alcanza valores de 75,960 y 74,240 mg/kg, para potasio, calcio y magnesio los microorganismos a una concentración de 3,75 % alcanzan valores de 1 016,427; 4 087,843; 64,893 mg/kg clasificados como valores altos a muy altos. Se realizó el análisis de conductividad

eléctrica para la remediación de suelos donde en el parámetro conductividad eléctrica con la aplicación de diferentes dosis de microorganismos baja la salinidad del suelo llegando a valores de 0,580 a 0,133 mS/cm.

5.2. Recomendaciones

Primera. Experimentar el uso de la solución nutritiva de microorganismos en diferentes pisos altitudinales de la provincia y región de Moquegua.

Segunda. Realizar la caracterización molecular de la solución nutritiva de los microorganismos en las tres provincias de la región de Moquegua.

Tercera. Evaluar los parámetros de análisis del suelo características físicos, químico y conductividad eléctrica para poder cuantificar la biorremediación en la región de Moquegua.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, Y. (2017). *Caracterización, identificación y evaluación de microorganismos autóctonos biorremediadores de suelos contaminados por agroquímicos en la provincia de Loja*. (Tesis de maestría). Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Agarwal, M., Dheman, S., Dubey, R., Kunar, P., Kumar, D., Bajpai, V. (2017). *Differential Antagonistic Responses of Bacillus pumilus MSUA 3 against Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum Causing Fungal Diseases in Fagopyrum esculentum Moench. Microbiological Research* <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.12>
- Ahmad, M., El-Gendy, O., Ahmed, R., Hassan, M., El-Kabbany, M. y Arumugam, T. (2018). *Microbial Pathogenesis* 115. 146-153
- Alejo, G., Salazar, F., Garcia, D., Arrieta, B., Jiménez, V. y Sánchez, A. (2012). *Physical and chemical degradation of agricultural soils at San Pedro Lagunillas, Nayarit. Tropical and subtropical agroecosystems*, 15 (2012) 323 – 328 p.
- Alegbeleye, O., Opeolu, O., Jackson, A. (2017). *Polycyclic aromatic hydrocarbons: a critical review of environmental occurrence and bioremediation. Environ. Manage.* 60, 758 – 783. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0896-2>.
- Ali, S., Hameed, S., Imran, A., Iqbal, M., y Lazarovits, G. (2014). *Genetic, physiological and biochemical characterization of Bacillus sp. strain RMB7 exhibiting plant growth promoting and broad spectrum antifungal activities. Microb. Cell Fact* 13, 144.
- Álvarez, Cl. (2012). *Identificación y caracterización bioquímica, morfológica y molecular de microorganismos cultivables asociados a la rizosfera y al*

sustrato de plantas de vainilla. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Perú.

Álvarez, M. (2018). *Caracterización de microorganismos benéficos provenientes de tres pisos altitudinales de Azuay-Ecuador y su influencia en el cultivo de fresa*. (Tesis de doctor). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.

Anaya, J. (2016). *Efecto de sustratos orgánicos y microorganismos eficaces (EM) en el rendimiento del cultivo de calabacín (Cucúrbita pepo L.) Ihasam – Tingua – Mancos - Yungay*". (Tesis pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Huaraz, Perú.

Ángeles, J. y Cruz, T. (2015). Isolation, molecular characterization and evaluation of nitrogen-fixing starins in promoting the growth of beans. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Volumen 6 número 5 30 de junio - 13 de agosto, 2015.

Ansari, G., Fouad, H., Shin, S., y Ansari, A. (2015). *Electrochemical enzyme-less urea sensor based on nano-tin oxide synthesized by hydrothermal technique*. Chem. Biol. Interact. 242, 45 – 49.

Anupa, P., Sangeetha, S., Praseetha, K., Emelda, J., Jabaslin, E., Sugunan, S. (2013). *Anticancer agents from actinomycetes enhance therapy of tumor induced mice*. J. Microbiol. Biotech. Res. 3, 41–50.

Añasco, A. y Picado, J. (2005). *Preparación y uso de abonos orgánicos sólidos y líquidos*. SEDECO. Agricultura para el futuro. Costa Rica. Disponible en <https://librosagronicosperu.blogspot.pe/2017/11/libros-manual-de-abonos-organicos-y.html>

Apoyo al Programa a la Formación profesional para la Inserción Laboral en el Perú,

APROLAB. (2007). *Manual para la producción de compost con microorganismos eficientes*. Lima, Perú. Material elaborado para la formación profesional en ganadería lechera.

Ayangbenro, A. S. y Babalola, O. O. (2017). *A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents*. Int. J. Environ. Res. Public Health 14, 94. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>.

Bai-ren, Y., Zhu-qiu, S., Li-ping, W., Zhao-xia, L., Cheng, D. (2017). *Kinetic analysis and degradation pathway for m-dichlorobenzene removal by Brevibacillus agri DH-1 and its performance in a biotrickling filter*. Bioresource Technology 231, 19–25. www.elsevier.com/locate/biortech.

Bandeira, T., Martins de Morales, C., Tuchtenhagen, R., Alves, L., Fischer, G., y Pereira F. (2017). *Probióticos de Bacillus toyonensis y Saccharomyces boulardii mejorar la respuesta inmune de la vacuna a virus del herpes bovino tipo 5 en el ganado ovino*. Yrvsc, doi: 10.1016 / j.rvsc.2017.12.022.

Bargabus, L., Zidack, N., Sherwood, E., Jacobsen, J. (2002). *Caracterización de resistencia sistémica en la remolacha azucarera provocada por un no patógeno, phyllospherecolonizing Bacillus mycoides, agente de control biológico*. Fisiológico y molecular patología de plantas. 61, 289-298.

Bascones, E. (2004). *Análisis de suelo y consejos de abonado*. Valladolid-España Editorial diputación de Valladolid.

Bazan, R. (2017). *Manual de procedimientos de los análisis de suelos y agua con fines de riego*. Lima-Perú. Edición Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA.

Bhari, R., Kaur, M., Sarup Singh, R., Pandey, A., y Larroche, CH. (2018). *Bioconversion of chicken feathers by Bacillus aerius NSMk2: A potential*

approach in poultry waste management. *Bioresource Technology Reports*.
10.1016/j.biteb.2018.07.015

Bhaskar N., Sudeepa, A., Rashmi, N., y Tamil, S. (2007). *Partial purification and characterization of protease of Bacillus proteolyticus CFR3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities*. *La tecnología de bio-98*, 2758-2764.

Bhattacharyya, N., Goswami, P. y Bhattacharyya, H. (2016). *Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario*. Review. *Journal of phytology* 8.

Bretveld, W., Thomas, M., Scheepers, T., Zielhuis, A., y Roeleveld, N. (2006). *La exposición a plaguicidas: ¿la función hormonal del sistema reproductor femenino interrumpido?* *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4, 30.

Bornscheuer, T. (2002). *Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis*. *FEMS Microbiol. Rev.* 26, 73–81.

Blunt, W., Copp, R., Keyzers, A., Munro, G., y Prinsep, R. (2017). *Marine natural products*, *Nat. Prod. Rep.* 34, 235–294.

Bush, E.A. (2018). *Reducing pesticide use in the home lawn and garden*. Virginia Cooperative Extension. VCE Publications 450: 450-725.

Calzada, J. (1982). *Metodos estadísticos para la investigación*. Lima, Perú: Editorial Milagros.

Cardona, A., y Sánchez, O. (2007). *Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities*. *Bioresour. Technol.* 98, 2415–2457.

Castillo, M. (2018). *Aplicación de enmiendas orgánicas y microorganismos*

eficientes para la mejora de la calidad del suelo en el anexo 22 – Jicamarca 2018. (Tesis de pregrado). Universidad Cesar Vallejo. Lima, Perú.

Castro, J. (2011). *Microorganismos de montaña* [Consulta: 25 de marzo de 2018]. Disponible en: https://prezi.com/8qgb5yin_s8n/microorganismos-de-montaña.

Chan, K., Savard, E., Reid, M., Cyr, T., Mc Cormick, A., y Seguin, C. (2009). *Identificaciones de antibióticos de lipopéptidos de una Bacillus subtilis aislar y su control de Fusarium graminearum en enfermedades en el maíz y el trigo.* Biocontrol, 54, 567 - 574.

Checa, O., Descance, J., Toro, M., Álvarez, S. y Salazar, Cl. (2015). Molecular caracterizacion of Trichoderma spp. in pea Pisum sativum L. *Revista de Ciencias Agrícolas*, Volumen 32(2); 3-12 ISSN Impreso 0120-0135

Chueca, A., Sahrawy, M., Pagano, A., y Gorge, L. (2002). *Chloroplast fructose-1,6-bisphosphatase: structure and function.* Photosynth. Res. 74, 235-249. <https://doi.org/10.1023/a:1021243110495>

Clavijo, C., Chipana, V., Centeno, J., Zúñiga, D., y Guillén, C. (2012). *Isolation, characterization and identification of diazotrophic bacteria in the rhizosphere of Olea europea olive crop in Tacna.* Peru.

Crini, G. (2006). *Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review.* Bioresour. Technol. 97, 1061–1085.

Cristale, J., Ramos, D., Dantas, R., Machulek, J., Lacorte, S., Sans, C., y Esplugas, S. (2016). *Can activated sludge treatments and advanced oxidation processes remove organophosphorus flame retardants?* Environ. Res. 144, 11-18.

- Collotta, M., Bertazzi, A., y Bollati, J. (2013). *La epigenética y pesticidas. Toxicología* 307, 35 a 41.
- Condori, H. (2015). *Influencia de microorganismos eficaces en el cultivo de chía (Salvia hispánica L.) para clima subtropical árido, irrigación Majes, Arequipa.* (Tesis de pregrado). Universidad nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa-Perú.
- Demana, H., Davies, M., Hook, S., y Rades, T. (2005). *Quil A-lipid powder formulations releasing ISCOMs and related colloidal structures upon hydration.* J. Control. Release. 103:45–59. doi: 10.1016/j.jconrel.2004.11.027.
- De los Santos, S., Parra, F., Herrera, A., Valenzuela, B., y Estrada, J. (2018). Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* volumen 9 número 1 01 de enero – 14 de febrero, 2018.
- De Miranda, R., Gomes, E. de B., Pereira N. Jr., Marin-Morales, A., Machado, M., y Gusmão, B., (2013). *Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by Curvularia lunata URM 6179 and Phanerochaete chrysosporium URM 6181.* Bioresour. Technol. 142, 361–367.
- De Volder, L., Tawfick, H., Baughman, H., y Hart, J. (2013). *Carbon nanotubes: present and future commercial applications.* Science 339, 535–539. <https://doi.org/10.1126/science.1222453> (80-).
- De Werra, P., Péchy-Tarr, M., Keel, C., y Maurhofer, M. (2009). *Role of gluconic acid production in the regulation of biocontrol traits of Pseudomonas fluorescens CHA0.* Appl. Environ. Microbiol. 75, 4162–4174. <https://doi.org/10.1128/AEM.00295-09>.

- Díaz, C., y Patel, K. (2010). *Baena S. Tistlia consotensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic, chemoheterotrophic, free-living, nitrogen-fixing alphaproteobacterium, isolated from a Colombian saline spring. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:1437–1443.
- Díaz, L. (2017). *Aislamiento y caracterización de microorganismos biocatalizadores de ceniza volcánica en suelos agrícolas de Tungurahua*. (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Ditta, A., y Khalid, A. (2016). *Bio-organo-phos: A sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils*. *Organic Fertilizers-From Basic Concepts to Applied Outcomes*. InTech.
- Dong-Wook, H., Jung, M., Min-Soo, K., Shin, N., Kim, P., Tae, W., y Bae, J. (2016). *Proteus cibarius* sp. nov., a swarming bacterium from Jeotgal a traditional Korean fermented seafood, and emended description of the genus *proteus*. <https://doi.org/10.1099/ijsem,0.001002>
- Dos Santos, B., Cervantes, J., y Van Lier, B. (2007). *Review paper on current technologies for decolourization of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology*. *Bioresour. Technol.* 98, 2369–2385.
- Dhanasekaran, S., Rajesh, A., Mathimani, T., Melvin, S., Rajasree, S. y Brindhadevi, K. (2019). *Efficacy of crude extracts of Clitoria ternatea for antibacterial activity against gram negative bacterium (Proteus mirabilis)*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 21, 101328. Journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/bab>
- Ejerchi, O. (1998). *Effect of combined bacterial and urea treatment of wood by basidiomycete fungi*. *Journal of Phytopathology* 146, 533–538.
- Erickson, K. y Hubbard, N., (2000). *Probiotic immunomodulation in health and*

disease. *J. Nutr.* 130, 403-410.

Esakkiraj, P., Usha, R., Palavesam, A., y Immanuel, G. (2012). *Solid-state production of esterase using fish processing wastes by Bacillus altitudinis AP-MSU*. *Food and bioproducts processing* 90, 370–376

Fathepure, Z. (2014). *Recent in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments*. *Front. Microbiol.* 5, 1 – 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00173>.

Feicán, C. (2011). *Manual de producción de abonos orgánicos*. INIAP. Ecuador, disponible en <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Manual%20de%20producci%C3%B3n%20de%20abonos%20org%C3%A1nicos.pdf>

Ghabrial, A., y Suzuki, N., (2009). *Viruses of plant pathogenic fungi*. *Ann. Rev. Phy-topathol.* 47, 353–384.

Godfrey, T., y West, S. (1996). *Enzimología Industrial*. Macmillan Publishers Inc., Nueva York, Nueva York, pp. 3-10

Goodwin, B., Mccorison, B., Cavaletto, R., Culley, E., Labutti, K., Baker, E., Grigoriev, V. (2016)., *The mitochondrial genome of the ethanol-metabolizing, wine cellar mold Zasmidium cellare is the smallest for a filamentous ascomycete*. *Fungal Biology*, doi: 10.1016/j.funbio.2016.05.003.

Gordon, R., Haynes, W., y Hor-nay, C. (1976). *The genus Bacillus*. *Agriculture handbook N° 427*. Agriculture research service United States department of agriculture, pp. 291.

Goswami, M., y Deka, S. (2019). *Biosurfactant production by a rhizosphere*

bacteria Bacillus altitudinis MS16 and its promising emulsification and antifungal activity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.003>

Gowdhaman, D., Jeyalakshmi, G., Sugumaran, R., Sai Subramanian N., Santhosh, y S., Ponnusami, V (2014). *Biochem. J.* 39, 70–77.

Ghosh, K., Maiti, K., Pramanik, K., Ghosh, K., Mitra, S. (2018). *The role of arsenic resistant Bacillus aryabhatai MCC3374 in promotion of rice seedlings growth and alleviation of arsenic phytotoxicity, Chemosphere,* doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.148.

Gumaa, S., Mahgoub, S. y Elsid, A. (1986). *Mycetoma of the head and neck. American journal of Tropical Medicine and Hygiene,* 35, 594-600.

Gupta P., Kumar, V., Usmani, Z., Rani R., Chandra, A., y Kumar V. (2020). *Implications of plant growth promoting Klebsiella sp. CPSB4 and Enterobacter sp. CPSB49 in luxuriant growth of tomato plants under chromium stress. Chemosphere* 240, 124944

Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T., y Wu, L. (2011). *Pesticides industry sales and usage.* US EPA, Washington, DC.

Hadad, D., Geresh, S., y Sivan, A. (2005). *La biodegradación de polietileno por el termófila bacteria borstelensis Brevibacillus. J. Appl. Microbiol.* 98, 1093 - 1100.

Hoover, S. (2005). *National movement targets lawn care poisons. Pesticides You* 25, 9–12.

Huacollo, M. (2018). *Manual de especialización en agricultura orgánica regenerativa y biointensiva para zonas desérticas.* Moquegua-Perú:

Editorial INIA.

Huang, B., Wu, J., Tying, K. (2016). *A review of licensed viral vaccines, some of their safety concerns, and the advances in the development of investigational viral vaccines*. J. Infection. 49:179–209. Doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.018.

Hsieh, H., Lee, S., Hsu, Y., Yu-Han, H., Chang, H., y Shih, N. (2009). *Gram-negative prosthetic joint infections: risk factors and outcome of treatment*. Clin Infect Dis; 49:1036.

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, INECC. (2007). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados por EPT (cap. 4)*. Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/459/cap4.html#top>

Islam, F., Yasmeent, T., Arif, S., Ali, S., Hameed, S., y Zhou, W. (2016). *Plant growth promoting bacteria confer salt tolerance in vigna radiate by up-regulating antioxidant defense and biological soli fertility*. Plant growth regulation 80(1): 23-36

Jacobsen, J., Zidack, K., y Larson, J. (2004). *El papel de Bacilo- con base biológica agentes de control en los sistemas de manejo integrado de plagas: enfermedades de las plantas*. Fitopatología 94, 1272-1275.

Janda, M., Abbott, L., Khashe, S., y Probert, W. (2001). *Biochemical identification and characterization of DNA groups within the Proteus vulgaris complex*. J Clin Microbiol 39: 1231-1234.

Jiehua, Q., Shuai, M., Yizhen, D., Shiwen, H., y Yanjun. K. (2019). *Ustilaginoidea virens: A Fungus Infects Rice Flower and Threats World Rice Production*. Rice Science, 26(4): 199-206. Available online at www.sciencedirect.com

- Jin, C., Liu, Q., Xu, H., y Tao, Y. (2007). *Decolorization of a dye industry effluent by Aspergillus fumigatus XC6*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74, 239–243.
- Jing, X., Qiaoni, Z., Haiyan, L., Liqiu, X., Lin, L., Ming, S., y Ziquan, Y. (2015). *Systemic nematicidal activity and biocontrol efficacy of Bacillus firmus against the root-knot nematode Meloidogyne incognita*. *World J Microbiol Biotechnol*, 31: 661-667.
- Jiyeong, P., Yunhee, S., y Young, H. (2014). *Biological control of Meloidogyne hapla using an antagonistic bacterium*. *Plant Pathol J*, 30: 288-298.
- Jung, J., An, N., Jin, L., Park, D., Kim, Y., Shon, K., y Kim, H. (2005). *Effect of chitinase-producing Paenibacillus illinoisensis KJA-424 on egg hatching of root-knot nematode (Meloidogyne incognita)*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12 (6), 865–871.
- Junqian, G., Gao, D., Hao, L., Jiajai, C., Junqi, Z., y Zhengliang, Q. (2018). *Biopotentiality of High Efficient Aerobic Denitrifier Bacillus megaterium S379 for Intensive Aquaculture Water Quality Management*. *Journal of Environmental Management* 222, 104–111
- Karami-Mohajeri, S., y Abdollahi, M. (2013). *La disfunción mitocondrial y organogénesis compuestos de fósforo*. *Toxicology. Appl. Pharmacol.* 270, 39 a 44.
- Kissane, Z., y Shephard, J. M. (2017). *The rise of glyphosate and new opportunities for biosentinel early-warning studies*. *Conservation Biology*, 31(6), 1293–1300. <https://doi.org/10.1111/cobi.12955>.
- Koutros, S., Silverman, T., Alavanja, C., Andreotti, G., Lerro, C., Heltshe, S., Lynch, F., Sandler, P., Blair, A., y Freeman, E. (2016). *La exposición ocupacional a pesticidas y el riesgo de cáncer de vejiga*. En t. *J. Epidemiol.*

45, 792 a 805.

- Krishanti, N., Wahyudi, A., y Nawangsih, A. (2015). *Non-pathogenic phyllosphere bacteria producing bioactive compounds as biological control of Xanthomonas oryzae*. Int. J. Pharma. Bio. Sci. 6, 801–810.
- Kumbar, B., Mahmood, R., Nagesha, N., Nagaraja, S., Prashant, G., Zablon S., Karosiya, A., y Chavan, M. (2019). *Field application of Bacillus subtilis isolates for controlling late blight disease of potato caused by Phytophthora infestans*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 22, 101366.
- Kurahashi, M., y Yokota, A. (2007). *Tateyamaria omphalii gen. nov., sp. nov., an a-Proteobacterium isolated from a top shell Omphalius pfeifferi pfeifferi*. Systematic and Applied Microbiology 30, 371-375. Available online www.sciencedirect.com.
- Kusmiatun, A., Rusmana, I., y Budiarti, S. (2015). *Characterization of Bacteriophage Specific to Bacillus pumilus from Ciapus River in Bogor, West Java, Indonesia*. HAYATI Journal of Biosciences January Vol. 22 No. 1, p 27-33. <http://journal.ipb.ac.id/index.php/hayati>
- Lacey, A. (2007). *Bacillus thuringiensis seovariety israelensis and Bacillus sphaericus for mosquito control*. J. Am. Mosq. Control Assoc. 23, 133 – 163.
- La Merrill, M., Karey, E., Moshier, E., Lindtner, C., La Frano, R., Newman, W., y Buettner, C. (2014). *La exposición perinatal de los ratones para el gasto de energía menoscaba plaguicidas DDT y el metabolismo en la descendencia hembra adulta*. Plos One 9, e103337
- Larsen, T. A., Peters, I., Alder, A., Eggen, R., Maurer, M., y Muncke, J. (2001). *Peer Reviewed: Reengineering the toilet for sustainable wastewater*

management, Environ. Sci. Technol. 35(9), 192-197

- Llanos, E. (2018). *Efecto de la aplicación de microorganismos eficientes en el contenido de cadmio y propiedades fisicoquímicas de un suelo contaminado del distrito de Orcotuna, Concepción, 2017*. (Tesis de pregrado). Universidad Continental. Huancayo, Perú.
- Liu, Y., Cao, L., Tan, H., y Zhang, R. (2017). *Surface display of ACC deaminase on endophytic Enterobacteriaceae strains to increase saline resistance of host rice sprouts by regulating plant ethylene synthesis*. *Microb. Cell Factories* 16 (1), 214.
- Liu, Q., Wang, Q., Xu, C., Shao, W., Zhang, C., Liu, H., Jiang, Z., y Gu, A. (2017). *Orgapesticidas nochloride alteración de la función mitocondrial en hepatocitos y trastornos del metabolismo de ácido graso agravados*. *Sci. Rep.* 7, 46339.
- Mahabali, S., y Spanoghe, P. (2015). *Evaluación de Riesgos de la utilización de plaguicidas por los agricultores de Commewijne, Surinam, América del Sur: un estudio piloto para las regiones Alkmaar y Tamanredjo*. *Reinar. Monit. Evaluar.* 187-193.
- Mahgoub, S. (1976). *Medical management of mycetoma*. *Bulletm of the World Health Organization*, 54: 303-310.
- Mandl, K., Schattauer, D., Geyrhofer, A., y Weingarimann, H. (2010). *Vielfalt der Schimmel im Keller*. *Mitteilungen Klosterneuburg* 60: 350–354.
- Manual de Legislación Ambiental (s. f.). *¿Qué es el plan de remediación ambiental?* Recuperado de http://www.legislacionambientalspda.org.pe/Indexphp?option=com_content&view=article&id=399&Itemid=3734

- Marti, J. (2008). *Diseño y manual de instalación de biodigestores familiares*, disponible www.cedecap.org.pe/uploads/biblioteca10bid_arch.pdf
- Masajtis-Zagajewska, A., y Nowicki, M. (2017). *New markers of urinary tract infection*. Clin. Chim. Acta 471: 286–291.
- Mato, M., Verdes, V., Andrade, I., y Legido, L. (2014). *Experimental and predicted data of excess molar enthalpies and excess molar volumes for the ternary system (1,3-dichlorobenzene + benzene + 1-chlorohexane) at T = 298.15 K*. J. Chem. Thermodyn. 73, 190–196.
- Maurer, M., Pronk, W., y Larsen, A. (2006). *Treatment processes for source-separated urine*, Water Res. 40(17): 3151-3166.
- Meng, X., Liu, G., Zhou, J., Fu, S. y Wang, G. (2012). Azo dye decolorization by *Shewanella aquimarina* under saline conditions. Bioresour. Technol. 114, 95–101.
- Metcalf, L., Wegener, L., Gonzalez, A., Lauber, L., Knights, D., y Ackermann, G. (2013). *A microbial clock provides an accurate estimate of the postmortem interval in a mouse model system*, e Life 2 01104
- Ministerio de Agricultura, (2008). *Estudio de la fresa en el Perú y en el mundo*. Consultado el 06 de octubre del 2018 de: <http://w.w.w.minagri.gob.pe/>
- Mnif, W., Hassine, I., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O., y Roig, B. (2011). *Efecto de endocrinos pesticidas descriptores: una revisión*. En t. J. Environ. Res. Salud Pública 8, 2265 a 2303.
- Mohamed, S., Amer, S., Selim, M., y Rifaat, H. (2018). *Characterization and applications of exopolysaccharide produced by marine Bacillus altitudinis MSH2014 from Ras Mohamed, Sinai, Egypt*. Egyptian Journal of Basic and

Applied Sciences.

- Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. México. 5ta edición, editorial Limusa – México.
- Moreno, J. y Velarde, K. (2016). *Aislamiento, caracterización y usos potenciales de microorganismos de tierra de montaña y subtrópico durante el periodo 2016*. (Tesis pregrado). Escuela superior politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Najafi, F., Deobagkar, D., y Deobagkar, D. (2005). *Potential application of protease isolated from Pseudomonas aeruginosa PD100*. Electronic Journal of Biotechnology 8, 198–207.
- Naquiche, N. (2014). *Aislamiento e identificación de bacterias termófilas productoras de proteasas provenientes de los geiseres de Calientes, Candarave. Tacna, Perú*. (Tesis pregrado). Universidad Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú
- Nasher, M., Hay, R., Mahgoub', S., y Guma, A. (1989). *In vitro studies of antibiotic sensitivities of Streptomyces somaliensis-a cause of human actinomycetoma*. Tezansactions of the royal society of tropical medicine and hygiene 83: 265-268
- Navas, D. (2016). *Caracterización molecular de actinomicetos provenientes de ecosistemas antárticos*. (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Ampato. Ampato, Ecuador.
- O'Hara, M., Brenner, W. y Miller, M. (2000). *Classification, identification and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella*. Clin. Microbiol. Rev. 13, 534–546.

- Ojuederie, O., y Babalola, O. (2017). *Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: a review*, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 14: 1504–1529.
- Oluwafemi, S., Obayori, B., Salam, O., Monsurat, I., y Olukayode, O. (2017). *Biodegradation Potentials of Polyaromatic Hydrocarbon (Pyrene and phenanthrene) by Proteus mirabilis Isolated from an animal charcoal polluted site*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.09.003>.
- Onyekweli, B. (2003). *Tropical field assessment of combined Trichoderma viride Proteus sp. and urea protective treatment of wood against biodeterioration*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 51: 109 – 114. www.elsevier.com/locate/ibiod
- Ordentlich A. (1988). *The role of chitinase of Serratia marcescens in biocontrol of Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*;78: 84–88.
- Organismo Mundial de la Salud, OMS. (2016). *Comunicado de prensa*, Ginebra, <http://www.who.int/news-room/detail/15-03-2016-AN-estima-12-6-millones-muertes-cada-año,-son-atribuibles-a-unhealthy-entornos>.
- Ou, Y., Shi, S., Ma, F., y Yan, B. (2010). *Decolorization of reactive dark blue K-R by the synergism of fungus and bacterium using response surface methodology*. *Bioresour. Technol.* 101, 8016–8023.
- Padilla, V. (2013). *Efecto de biol como fertilizante foliar a diferentes niveles en la producción del cultivo de frutilla (Fragaria annanasa D.) en el centro experimental de Cota, Cota*. Bolivia. (Tesis pregrado). Universidad Mayor de San Andres. La Paz, Bolivia.
- Palansooriya, N., Yang, I., Tsang, F., Sarkar, B., Hou, D., Xinde, M., Erik, R., Jorg,

- K., Ki-Hyun, y Ok, S. (2019). *Occurrence of contaminants in drinking water sources and the potential of biochar for water quality improvement: a review*. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 1–63. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1629803>.
- Palomino, M. (2019). *Microorganismos de suelos florícolas contaminados con plaguicidas durante su tratamiento con vermicomposta*. (Tesis de magister). Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Pattnaik, S., Dash, D., Mohapatra, S., Pattnaik, M., Marandi, A., Das, S., y Samantaray, D. (2020). *Improvement of rice plant productivity by native *Cr (VI)* reducing and plant growth promoting soil bacteria *Enterobacter cloacae**. Chemosphere 240, 124895
- Paraszkiewicz, K., Bernata, P., Siewieraa, P., y Morylb, M. (2017). *Agricultural potential of rhizospheric *Bacillus subtilis* strains exhibiting varied efficiency of surfactin production*. Scientia Horticulturae 225: 802–809
- Peebles, L. (2014). *Bioremediation Using Extremophiles, Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00010-8>.
- Pierrie, Y.; Mohammed, A. R.; Kirby, D. J.; Mcneil, S. E., y Bramwell, V. W. (2008). Review: Vaccine adjuvant systems: Enhancing the efficacy of sub-unit protein antigens. Int. J. Pharm. 364:272–280.
- Pitt, L., Mc Clure, J., Parker, M., Amezquita, A., y Mc Clure, P. (2015). *Bacillus cereus in personal care products: Risk to consumers*. International journal of cosmetic Science 37: 165-174
- Pradeepa, C., Yun, C., Seok, Y., Suha, E., Seonga, J., Sik, S., Suk, M., y Cheol, J. (2014). *An extremely alkaline novel chitinase from *Streptomyces* sp. CS495*.

- Pokhrel, B., Gong, P., Wang, X., Chen, M., Wang, C., y Gao, S. (2018). *Distribution, sources, and air–soil exchange of OCPs, PCBs and PAHs in urban soils of Nepal*. Chemosphere 200, 532–541.
- Poly, E. (2016). *Membrane technology aims to combat worsening fresh-water crisis worldwide*, Membrane Technol. 2-10.
- Qu, Y., Caoa, X., Maa, Q., Shib, S., Tanc, L., Li, X., Zhoua, H., Zhanga, X., y Zhou. J. (2012). *Aerobic decolorization and degradation of Acid Red B by a newly isolated Pichia sp. TCL*. Journal of Hazardous Materials 224: 31–38. journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhazmat
- Raddadi, N., Cherif, A., Daonchio, D., Neifar, M., y Fava, F. (2015). *Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 99, 7907–7913. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6874-9>.
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., y Abd_Allah, F. (2017). *Bacillus: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments*. Front Physiol. 8, 667.
- Raghothama, G., y Karthikeyan, S. (2005). Phosphate Acquisition. In Root Physiology: from Gene to Function. Springer, Netherlands, pp. 37–49.
- Rajeev, G., Soneil, G., Krishna K. S., Arvind, G., y Prakash, D. (2012). *Regional variations in 485 cardiovascular risk factors in India: India heart watch*. World J. cardiol. 4(4), 112-120.
- Ramos, F. (2017). *Efecto de microorganismos eficientes (EM) en la fertilidad del suelo agrícola degradado biológicamente del sector Barraza, Iaredo, Trujillo*. (Tesis de Pregrado). Universidad César Vallejo. Trujillo, Perú.

- Rene, R., Kar, S., Krishnan, J., Pakshirajan, K., López, E., Murthy, V., y Swaminathan, T. (2015). *Start-up, performance and optimization of a compost biofilter treating gas-phase mixture of benzene and toluene*. *Bioresour. Technol.* 190, 529–535.
- Restrepo, A., Cortes, M. y Rojano, B. (2010). *Potenciación de la capacidad antioxidante de fresa (*Fragaria ananassa* Duch) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación a vacío*. (Tesis pregrado). Universidad de de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Rishad, R., Rebello, S., Shabanamol, S., y Jisha, S. (2016). *Biocontrol potential of Halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel *Bacillus Pumilus* MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*.
- Rojas, L. y Valencia, A. (2018). *Caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno y su relación con suelos agrícolas en el distrito de riego de Repelón departamento del Atlántico*. (Tesis de pregrado). Universidad de la Costa. Barranquilla, Colombia.
- Rolli, U. (2010). *Microorganismos efectivos en la agricultura*. Consultado el 08 de octubre del 2018. Disponible en <http://enmexico.com/agricultura.pdf>
- Sánchez, S., y Demain, A.L. (2002). *Metabolic regulation of fermentation processes*. *Enzym. Microb. Technol.* 31, 895–906.
- Sandra, A., Liliana, G., Fernando, Z., y Elizabeth, K., (2003). *A molecular phylogeny of *Panicum* (Poaceae: Paniceae): tests of monophyly and phylogenetic placement within the Panicoideae*. *Am. J. Bot.* 90, 796–821.
- Saratale, G., Saratale, D., Chang, J., y Govindwar, P. (2008). *Decolorization and*

biodegradation of textile dye Navy Blue HER by Trichosporon beigeli
NCIM- 3326, J. Hazard. Mater. 166: 1421–1428.

Stevens, M., Hughes, A., y Mo, J. (2013). *Evaluation of a commercial Bacillus thuringiensis var. israelensis formulation for the control of chironomid midge larvae (Diptera: Chironomidae) in establishing rice crops in south-eastern Australia.* J. Invertebr. Pathol. 112, 9 – 15.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.10.006>.

Singh, D., Geat, N., Rajawat, S. Prasanna, R., Saxena, K. y Rajeev, K. (2017). *Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from wheat genotypes and their influence on plant growth promotion.* International journal of current microbiology and applied. Sciences 6.

Sistema de Información Estadística Agrícola, SIEA. (2020). *Estadística agrícola en el Perú.* Consultado el 20 de junio del 2020. Disponible en <http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/pdf>.

Solís, J. (2015). *Respuesta del suelo y del cultivo de fresa (Fragaria ananassa D.) a la aplicación de lactofermentos enriquecidos en el sector Querochaca cantón Cevallos.* (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Quito, Ecuador.

Song, L., Shao, Y., Ning, S., y Tan, L., (2017). *Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain Pichia occidentalis G1 for degrading and detoxifying azo dye.,* Bioresource Technology, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02>

Sowmya, B., Jhample, M., Prashant, K., Bhagwat, M., y Padma, B. (2015). *Statistical media optimization for enhanced production of fibrinolytic*

enzyme from newly isolated Proteus penneri SP-20, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2015.05.006>

Sunab, W., Liua, W., Cuia, L., Zhang, M., y Wang, B. (2013). *Características e identificación de una bacteria resistente al cloro, sphingomonas TS001, a partir de un modelo de sistema de distribución de agua potable*. <https://doi.org/10.1016/j.scititenv.2013.04.030>

Taskin, M., Ortucu, S., Unver, Y., Tasar, C., Ozdemir, M., y Kaymak, C. (2016). *Invertase production and molasses decolourization by cold-adapted filamentous fungus Cladosporium herbarum ER-25 in nonsterile molasses medium*. Process Safety and Environment Protection, <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.>

Tiryaki, O. y Temur, C. (2010). *The fate of pesticide in the environment*. J. Biol. Environ. Sci. 4, 29–38

The National Academy Press. (1993). "In situ Biorremediation". "When does it work? "En "The National Acedemy of Sciences", 1993. Disponible: <http://books.nap.edu/catalog/2131.html>. (Consultado: 2020, Marzo 13).

Tribe, T., Thines, E., y Eber, W. (2006). *Moulds that should be better known: the wine cellar mould, Racodium cellare Persoon*. Mycologist 20: 171-175.

Tripathi, K., Singh, P., Kumar, D., y Chauhan, K. (2012). *Impact of exogenous silicon addition on chromium uptake, growth, mineral elements, oxidative stress, antioxidant capacity, and leaf and root structures in rice seedlings exposed to hexavalent chromium*. Acta Physiol. Plant. 34 (1), 279–289.

Torzewska, A., Bednarska, K., y Rzalski, A., (2019). *Influence of various uropathogens on crystallization of urine mineral components caused by*

Proteus mirabilis. Res. Microbiol. 170, 80–85.

Ulloa, R. (2016). *Aislamiento y caracterización molecular de microorganismos endofíticos, asociados a Valeriana sp. y gentianella weberbaueri Gil y su uso como promotor de crecimiento vegetal*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Máyo. Huaraz, Perú.

Umaña, S. (2017). *Efecto del uso de microorganismos de montaña sobre el suelo con base en dos cultivos agrícolas*. (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica. Rodrigo Facio, Costa Rica.

Umrana, V. (2006). *Bioremediation of toxic heavy metals using acid thermophilic autotrophes*. Bioresource Technology 97 (10).

Valenzuela, J. (2018). Caracterización bioquímica y molecular de bacterias asociadas a nódulos de cuatro leguminosas en la provincia de Santa Elena, Ecuador. *Revista Ciencia ergo-sum*, Volumen 25 número 1. Universidad Autónoma del estado de México, México.

Velásquez, O. (2018). *Aislamiento, selección y evaluación de microorganismos controladores biológicos de Botrytis sp.* (Tesis pregrado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Bogotá, Colombia.

Volke, T. y Velasco, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: Editorial Instituto Nacional de Ecología.

Wang, L., Chen, L., Tsang, C., Li, S., Baek, K., Hou, D., Ding, S., y Poon, S. (2018). *Recycling dredged sediment into fill materials, partition blocks, and paving blocks: technical and economic assessment*. J. Clean. Prod. 199, 69–76.

Wang, H., Zheng, W., Su, Q., Tian, Y., Xiong, J., y Zheng, L. (2009). *Biological decolorization of the reactive dyes Reactive Black 5 by a novel isolated*

bacterial strain Enterobacter sp. EC3, J. Hazard. Mater. 171: 654–659.

Wei, L., Li, Q., Zhuo, N., Liao, S., Xie, Y., Guo, L., Li, J., Zhang, Y., y Liang, Q. (2015). *Organophosphorus flame retardants and plasticizers: sources, occurrence, toxicity and human exposure*. Environ. Pollut. 196, 29-46.

Wen, J., Ren, C., Huang, N., Liu, Y., y Zeng, R. (2015). *Draft genome of bagasse degrading bacteria Bacillus aryabhatai GZ03 from sea water*. Mar. Genomics 19, 13-14.

Williams, L. D., Burdock, G. A., Jiménez, G. y Castillo, M. (2009). *Literature review on the safety of Toyocerin®, a non-toxicogenic and non-pathogenic Bacillus cereus var. toyoi preparation*. Regul. Toxicol. Pharmacol. 55: 236-246. doi:10.1016/j.yrtph.2009.07.009.

Wu, K., Feng, H., Jiang, Y., y Zhao, J. (2008). *Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin – containing cotton*. Science 321, 1676 – 1678.

Yadav, A. (2017). *Plant growth promoting bacteria: biodiversity and multifunctional attributes for sustainable agriculture*, Adv. Biotech. Micro. 5: 555671.

Yang, C., Liu, N., Guo, X., y Qiao, C. (2006). *Cloning of mpd gene from a chlorpyrifos degrading bacterium and use of this strain in bioremediation of contaminated soil*. FEMS Microbiol. Lett. 265, 118-125.

Yuehui, S., Wenqiong, W., Chunchun, H., Xiawei, J., Lujun, Ch., Gaoming, Y., Fuchang, S., Zhengliang, W., Sanbao, S., Tingsheng, X., Zhongzhi, Z., DuJie, H., Fan, Z., y Beiwen, Z. (2014). *Genome sequence of Brevibacillus agri strain 5-2, isolated from the formation water of petroleum reservoir*. Marine Genomics 18: 123–125. www.elsevier.com/locate/margen

- Zapata, M., y Castellanos, R. (2019). Aislamiento e identificación de bacterias celulolíticas termófilos de géiseres naturales de Candarave-Tacna. *Revista Ciencia & Desarrollo*, Volumen 18, número 29-36. [Http://doi.org/10.3332/26/26176033.2014.18.437](http://doi.org/10.3332/26/26176033.2014.18.437)
- Zhang, X., Li, A., Szewzyk, U., y Ma, F. (2016). *Mejora de la eliminación biológica de nitrógeno con la bacteria de oxidación Fe (II) dependiente de nitrato Aquabacterium parvum B6 en un biorreactor de flujo ascendente para el tratamiento de aguas residuales.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.041>
- Zhou, Y., Yua, J., Pana, X., Yua, M., Dua, Y., Qia, Z., Zhanga, R., Songa, T., Yina, X., y Liu, Y. (2019). *Characterization of propiconazole field-resistant isolates of Ustilaginoidea Virens.* *Pesticide Biochemistry and Physiology* 153: 144–151. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/pest.