



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS A CONCENTRACIONES IN  
VITRO DE MERCURIO Y PLOMO PRESENTES EN EL RÍO  
TOROCOCHA DE JULIACA - 2022**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. CRISTIAN EMILIO CHAVEZ GAMARRA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y  
LABORATORIO CLÍNICO**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS A CONC  
ENTRACIONES IN VITRO DE MERCURIO  
Y PLOMO PRESENTESEN EL RÍO TOROC  
O

AUTOR

CRISTIAN EMILIO CHAVEZ GAMARRA

RECuento DE PALABRAS

21517 Words

RECuento DE CARACTERES

109783 Characters

RECuento DE PÁGINAS

119 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.2MB

FECHA DE ENTREGA

Dec 31, 2023 10:48 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Dec 31, 2023 10:51 AM GMT-5

● **11% de similitud general**

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

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



Blgo. Mg. Diana Elizabeth Cervero Zegarra  
DOCENTE  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNA PUNO



## DEDICATORIA

*Quiero dedicar este trabajo de investigación a Dios por guiarme en el camino de la vida, por darme fortaleza en cada una de las adversidades que se me presento, y sabiduría para cumplir cada uno de mis objetivos y metas propuestas.*

*A mis padres: Ronald Chávez y Odaluna Gamarra por ser mis grandes maestros en mi formación como persona, los pilares fundamentales en mi vida, quienes me inculcaron valores y principios en el decurso de los años. Por brindarme su amor y apoyo incondicional en cada adversidad presentada, mas aun en mi formación académica. Para ellos con mucho amor y cariño, les dedico cada una de mis metas cumplidas, en reconocimiento a todo el esfuerzo y sacrificio hecho para que yo estudie, se merecen esto y muchas cosas mas, mi gratitud eterna con ellos.*

*De manera muy especial a Lucero mi compañera inseparable y Enzo mi razón de ser, quienes con su amor y comprensión fueron mi mayor inspiración y fuente de apoyo incondicional, a quienes debo toda la tenacidad en el decurso de mi vida.*

*A mis familiares por todo el apoyo incondicional y los sabios consejos que recibí en los momentos mas importantes de mi vida.*

*A mis hermanas Katuska y Teresa con quienes he compartido momentos muy hermosos, quienes me brindaron su apoyo y su deseo de superarme.*

*Cristian Emilio Chavez Gamarra*



## AGRADECIMIENTOS

Dar gracias a Dios por siempre estar guiándome, por darme la fuerza y el temple necesario para seguir hacia adelante.

A la Universidad Nacional del Altiplano - Puno mi alma mater, por haberme acogido durante mi formación profesional. De igual manera, a cada uno de los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por guiarme y haberme impartido los conocimientos básicos y especializados durante mi formación académica.

De manera muy especial a la Doctora Roxana del Carmen Medina Rojas quien fue mi mentora y una inspiración a seguir en decurso de mi vida universitaria.

A mis padres que hicieron todo lo posible para que mi educación y mis sueños no se trunquen, a pesar de los altos y bajos que pasamos en el decurso de mi formación académica, sin ellos las dificultades hubiesen sido peor, su amor incondicional, dedicación y sacrificio han sido la base de mi formación y desarrollo como persona.

A mis amigos y amigas de la universidad, de manera especial John, Wladimir, Henry, Ubert, Alex, Cristian, Ever, Yessica, Evelin, Ximena, Melissa, Evelyn, Esmeralda, Sonali, Sandra y Camila, por haber hecho de mi vida universitaria un trayecto de anécdotas, vivencias y experiencias que jamás olvidare.

*Mis mas sinceros agradecimientos - Cristian Emilio Chavez Gamarra*



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 18**

**ABSTRACT..... 19**

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1. OBJETIVO GENERAL ..... 21**

**1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 21**

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LA LITERATURA**

**2.1. ANTECEDENTES..... 22**

**2.2. MARCO TEÓRICO ..... 26**

2.2.1. *Citrobacter* sp ..... 26

2.2.2. *Pseudomonas* sp ..... 27

2.2.3. Metales pesados ..... 28

2.2.4. Microorganismos y metales pesados..... 28

2.2.5. Mercurio..... 29

2.2.6. Plomo ..... 29



2.2.7. Microorganismos resistentes a metales pesados .....	30
2.2.8. Microorganismos tolerantes a metales pesados .....	30
2.2.9. Cualidades de las bacterias para remediar aguas contaminadas por metales pesados.....	31

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>3.1. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2. TAMAÑO DE MUESTRA A EVALUAR.....</b>	<b>32</b>
<b>3.3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>33</b>

### **CAPÍTULO IV**

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2. SUPUESTOS BIOESTADÍSTICOS .....</b>	<b>42</b>
<b>4.3. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) IN VITRO A CONCENTRACIONES DE MERCURIO Y PLOMO EN BACTERIAS <i>CITROBACTER SP</i> Y <i>PSEUDOMONAS SP</i> AISLADAS DEL AGUA DEL RÍO TOROCOCHA MEDIANTE EL MÉTODO DE MICRODILUCIÓN EN TUBO. ....</b>	<b>65</b>
<b>4.4 CONCENTRACIÓN MINIMA BACTERICIDA (CMB) IN VITRO DE MERCURIO Y PLOMO EN BACTERIAS <i>CITROBACTER SP</i> Y <i>PSEUDOMONAS SP</i> AISLADAS DEL AGUA DEL RÍO TOROCOCHA MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCOS DE PAPEL.....</b>	<b>82</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>99</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>99</b>



<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>110</b>

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas

**SUBLINEA DE INVESTIGACIÓN:** Diagnostico y Epidemiologia

**FECHA DE SUSTENTACION:** 05 de enero del 2024



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cálculo de la concentración mínima inhibitoria de antibióticos a utilizar para metales pesados en bacterias. ....	35
<b>Figura 2.</b> Gráfica de normalidad de la CMI de Hg en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	43
<b>Figura 3.</b> Gráfica de normalidad de Hg para el cálculo de CMB en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	44
<b>Figura 4.</b> Gráfica de normalidad de la CMI de Pb en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	45
<b>Figura 5.</b> Gráfica de normalidad de Pb respecto a la CMB en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	46
<b>Figura 6.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo de la CMB de Hg en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	48
<b>Figura 7.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo respecto a la CMB de Pb en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	49
<b>Figura 8.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	51
<b>Figura 9.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	52
<b>Figura 10.</b> Gráfica de normalidad de la CMI de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	54
<b>Figura 11.</b> Gráfica de normalidad de Hg para el cálculo de la CMB de hg en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	55



<b>Figura 12.</b> Gráfica de normalidad de la CMI de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> .....	56
<b>Figura 13.</b> Gráfica de normalidad de CMB de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	57
<b>Figura 14.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	58
<b>Figura 15.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para la CMB de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	60
<b>Figura 16.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	61
<b>Figura 17.</b> Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para la CMB de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	63
<b>Figura 18.</b> Gráfico de cajas de la CMI de Hg en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	65
<b>Figura 19.</b> Gráfico de cajas de la CMI de Pb en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	67
<b>Figura 20.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en <i>Citrobacter</i> <i>sp.</i> .....	69
<b>Figura 21.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en <i>Citrobacter sp.</i> .....	73
<b>Figura 22.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> .....	76



<b>Figura 23.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> .....	79
<b>Figura 24.</b> Gráfico de cajas de la CMB de Hg en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	83
<b>Figura 25.</b> Gráfico de cajas de la CMB de Pb en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	85
<b>Figura 26.</b> CMB de mercurio en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> en los puntos de muestreo.....	87
<b>Figura 27.</b> Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> en los puntos de muestreo. ....	90
<b>Figura 28.</b> Promedio de CMB de mercurio en la bacteria <i>Pseudomonas sp</i> en los puntos de muestreo. ....	93
<b>Figura 29.</b> Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria <i>Pseudomonas sp</i> en los puntos de muestreo.....	96



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Distribución de las muestras por zonas de muestreo. ....	33
<b>Tabla 2.</b> Resultados de los estadísticos descriptivos de la bacteria <i>Citrobacter</i> sp. .....	38
<b>Tabla 3.</b> Resultados de los estadísticos descriptivos de la bacteria <i>Pseudomonas</i> <i>sp.</i> .....	40
<b>Tabla 4.</b> Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo respecto a la CMB de Hg en la bacteria <i>Citrobacter</i> sp. ....	49
<b>Tabla 5.</b> Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo de CMB de Pb en la bacteria <i>Citrobacter</i> sp.....	50
<b>Tabla 6.</b> Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria <i>Citrobacter</i> sp. ....	52
<b>Tabla 7.</b> Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria <i>Citrobacter</i> sp. ....	53
<b>Tabla 8.</b> Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp. ....	59
<b>Tabla 9.</b> Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo para el cálculo de CMB de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp. ....	61
<b>Tabla 10.</b> Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp.....	62



<b>Tabla 11.</b> Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para la CMB de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	64
<b>Tabla 12.</b> Resumen del cumplimiento de los supuestos bioestadísticos.....	64
<b>Tabla 13.</b> Análisis de la CMI de Hg en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	65
<b>Tabla 14.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) respecto a las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	66
<b>Tabla 15.</b> Análisis de la CMI de Pb en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	67
<b>Tabla 16.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp.</i> .....	68
<b>Tabla 17.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en <i>Citrobacter sp.</i> .....	69
<b>Tabla 18.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) respecto a la bacteria <i>Citrobacter sp.</i> .....	70
<b>Tabla 19.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en <i>Citrobacter sp.</i> .....	71
<b>Tabla 20.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en <i>Citrobacter sp</i> .....	72



<b>Tabla 21.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a la bacteria <i>Citrobacter</i> sp. .....	74
<b>Tabla 22.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en <i>Citrobacter</i> sp. ....	74
<b>Tabla 23.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en <i>Pseudomonas</i> sp. ....	76
<b>Tabla 24.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de hg (mercurio) respecto a la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp. ....	77
<b>Tabla 25.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en <i>Pseudomonas</i> sp. ....	78
<b>Tabla 26.</b> Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en <i>Pseudomonas</i> sp. ....	79
<b>Tabla 27.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a la bacteria <i>Pseudomonas</i> sp. ....	80
<b>Tabla 28.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de pb (plomo) en <i>Pseudomonas</i> sp. ....	81
<b>Tabla 29.</b> Análisis de la CMB de Hg en las bacterias <i>Citrobacter</i> sp y <i>Pseudomonas</i> sp. ....	82



<b>Tabla 30.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) respecto a las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp</i> .....	84
<b>Tabla 31.</b> Análisis de la CMB de Pb en las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp</i> .....	84
<b>Tabla 32.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) respecto a las bacterias <i>Citrobacter sp</i> y <i>Pseudomonas sp</i> .....	86
<b>Tabla 33.</b> Promedio de CMB de mercurio en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> en los puntos de muestreo.....	86
<b>Tabla 34.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a los promedios de CMB de mercurio en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> .....	88
<b>Tabla 35.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Hg en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> .....	88
<b>Tabla 36.</b> Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> en los puntos de muestreo.....	89
<b>Tabla 37.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a los promedios de CMB de Pb (plomo) en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> .....	91
<b>Tabla 38.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Pb en la bacteria <i>Citrobacter sp</i> .....	91
<b>Tabla 39.</b> Promedio de CMB de mercurio (mercurio) en la bacteria <i>Pseudomonas sp</i> en los puntos de muestreo.....	92



<b>Tabla 40.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a los promedios de CMB de mercurio en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	94
<b>Tabla 41.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Hg en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	94
<b>Tabla 42.</b> Promedio de CMB de plomo en la bacteria <i>Pseudomonas sp</i> en los puntos de muestreo.....	95
<b>Tabla 43.</b> Resultados de la prueba Kruskall Wallis respecto a los CMB de plomo en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	97
<b>Tabla 44.</b> Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Pb en la bacteria <i>Pseudomonas sp.</i> .....	97



## ÍNDICE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Panel fotográfico .....	111
<b>Anexo 2.</b> Cuadro de interpretación de pruebas bioquímicas .....	114
<b>Anexo 3.</b> Base de datos de <i>Citrobacter</i> sp.....	115
<b>Anexo 4.</b> Base de datos <i>Pseudomonas</i> sp.....	116
<b>Anexo 5.</b> Constancia de ejecución.....	117
<b>Anexo 6.</b> Autorización para el depósito de tesis o trabajo de investigación en el repositorio institucional.....	118
<b>Anexo 7.</b> Declaración jurada de autenticidad de tesis .....	119



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria.

**CMB:** Concentración mínima bactericida.

**Hg:** Símbolo del mercurio en la tabla periódica.

**Pb:** Símbolo de plomo en la tabla periódica.



## RESUMEN

Este trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de evaluar la supervivencia de bacterias aisladas de muestras de agua del río Torococha de Juliaca - 2022 a concentraciones in vitro de mercurio y plomo. Los géneros aislados fueron *Citrobacter sp.* y *Pseudomonas sp.* Esta investigación es de enfoque cuantitativo-transversal, explicativo, de tipo básico ya que se determinará la tolerancia bacteriana mediante el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de mercurio y plomo, el muestreo fue por conveniencia, se analizó 36 muestras, tomadas de tres puntos del río Torococha que está ubicado en el distrito de Juliaca, la CMI se hizo mediante ensayos de microdilución en tubo y la CMB mediante difusión y discos de papel en agar Muller Hinton. Los resultados estadísticos demuestran que existe diferencia significativa al hacer la prueba de Kruskal Wallis respecto a la CMI de Hg y Pb en *Citrobacter sp.* y *Pseudomonas sp.*, también se halló diferencia significativa en la CMB de Hg y Pb para las mismas bacterias.

**PALABRAS CLAVE:** *Citrobacter sp.*, concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida, mercurio, plomo, *Pseudomonas sp.*, río Torococha.



## ABSTRACT

This research work was developed with the purpose of evaluating the survival of bacteria isolated from water samples from the Torococha river of Juliaca -2022 to in vitro concentrations of mercury and lead. This research was of quantitative-transversal approach, explanatory, of basic type since its tolerance will be determined by calculating the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC), the sampling is by convenience, 36 samples were analyzed, taken from three points of the Torococha river which is located in the district of Juliaca, the MIC was done by microdilution tube assays and the minimum bactericidal concentration by diffusion and paper discs on Muller Hinton agar. There is a significant difference in the Kruskal Wallis test with respect to the MIC of Hg and Pb in *Citrobacter sp*, there is also a significant difference in the Kruskal Wallis test with respect to the MIC of Hg and Pb in *Pseudomonas sp*, and also a significant difference in the MBC of Hg and Pb in the *Citrobacter sp* and *Pseudomonas sp* batteries, with the northern and central zones having the highest MBC.

**KEYWORDS:** *Citrobacter sp*, mercury, *Pseudomonas sp*, lead, Torococha river, tolerance, MIC, MBC.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La constante degradación del medio ambiente provocada por las sustancias tóxicas que se vierten en la superficie terrestre y en aguas superficiales como los ríos es uno de los principales problemas a los que nos enfrentamos en la actualidad. Muchos de estos contaminantes incluyen metales pesados, que son peligrosos para los seres humanos y otras especies ambientales en altas concentraciones, alterando los ciclos normales de los ecosistemas y causando cambios en la salud humana y la vida de otros seres vivos (Camacho, 2014).

Muchas bacterias han elaborado mecanismos de defensa para resistir los efectos nocivos de diversos metales tóxicos.

Según la comisión de vivienda y construcción Ley, N. 2067/2017-CR (2009) en el río Torococha se ha comprobado que el vertido de residuos sólidos, el vertido de aguas residuales y la ausencia de canalización de su recorrido en la zona principal provocan una contaminación importante.

La familia de las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp* tienen cualidades que les permiten tolerar concentraciones de metales, retienen los metales pesados durante periodos de tiempo relativamente breves, entre estos metales se encuentran el plomo y mercurio. En la última década se ha ido incrementando el uso de microorganismos con capacidades de disminuir los efectos de la contaminación neutralizando sus efectos (Beltrán & Gómez, 2016).

Por ello este trabajo de investigación se consideró como un estudio de alternativa de solución respecto a la contaminación a causa de plomo y mercurio así favorecer la



recuperación del río Torococha utilizando las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp* (Aguilar, 2017).

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la supervivencia bacteriana a concentraciones in vitro de mercurio y plomo, de bacterias aisladas de muestras de agua del río Torococha de Juliaca – 2022.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de mercurio en 10 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 200 mg/l y plomo en 500 mg/l, 1000mg/l, 1500 mg/l, 2000 mg/l de los géneros bacterianos aislados del agua del río Torococha mediante el método de microdilución en tubo.
2. Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) de mercurio en 10 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 200 mg/l y plomo en 500 mg/l, 1000mg/l, 1500 mg/l, 2000 mg/l en bacterias de los géneros aislados del agua del río Torococha mediante el método de difusión en discos de papel.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

##### a. Contaminación del río Torococha:

Yana (2014) en su estudio de Contaminación por materia orgánica en el río Torococha de la ciudad de Juliaca, determinó que presentó sólidos suspendidos totales entre 189 y 192 mg/l, la temperatura entre 11.66 y 13.33 °C, el pH entre 6.78 y 7.46, la DBO entre 15.15 y 81.55 mg/l y la DQO entre 24.30 y 117.82 mg/l; asimismo la CMPRALTA (2014) al ejecutar monitoreos en la cuenca del río Coata reportaron que el río Torococha presentó la mayor conductividad eléctrica con cifras de 3430  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , indicando tener presencia de compuestos inorgánicos disueltos en el agua, a causa del vertimiento de aguas residuales domésticas e industriales producidas por la población de Juliaca; por otro lado, Apaza (2015) en su tesis concluye que el agua del río Torococha posee una concentración de plomo es de 0.2889 mg/l y zinc de 2.38 mg/l, dichos resultados se encuentran por encima de los valores recomendados por la Ley General de Aguas en su categoría 3, donde plomo manifiesta 0.05 y zinc 2.0 mg/l.

Aguilar (2017) en su investigación manifiesta que el agua del río Torococha en dos zonas de evaluación presentaron valores de coliformes totales en 11000 NMP/100 ml y coliformes termotolerantes 2000 NMP/100 ml en la zona I, mientras que en la zona II coliformes totales 11000 NMP/100 ml y coliformes termotolerantes 3350 NMP/100 ml, las cuales superan los ECAs para ríos de la sierra (coliformes totales 3000 NMP/100 ml y coliformes termotolerantes 2000 NMP/100 ml); a su vez, Gutiérrez (2018) en Juliaca (Perú), determinó en muestras de agua del río Coata en la desembocadura del río



Torococha los parámetros de DBO entre 2 y 38 mg/l, coliformes termotolerantes entre 460 y 2400 NMP/100 ml, mercurio menor a 0.0005, plomo menor a 0.004, entre otros, la mayoría de los parámetros no superan los límites permitidos por el ECA-AGUA, Categoría 3, a excepción oxígeno disuelto, la DBO y coliformes termotolerantes que la excede y según Claudet (2019) reporta resultados de monitoreo de la calidad de agua de la sub cuenca de los ríos Coata – Torococha, donde estableció que posee una alta concentración de metales pesados.

#### **b. Tolerancia bacteriana a los metales pesados:**

Según Gómez et al. (2002) Mediante el método de la concentración mínima inhibitoria determinaron que el 100% de bacterias aisladas fueron resistentes a níquel en 60 y 220 mmol/l y cobalto en 10 a 200 mmol/l, y poseen una tendencia a ser utilizadas en Biotecnología Minera, entre las bacterias se tienen a *Escherichia* sp, *Enterobacter liquefaciens*, *Serratia* sp y *Citrobacter amalonaticus*; por otro lado, Moraga et al. (2003) en la bahía de Iquique encontraron 104 UFC/ml de carga bacteriana, la mayoría bacilos Gram negativos, mediante la concentración mínima inhibitoria, de 43 cepas el 27% crecieron en un medio suplementado con cobre, *Pseudomonas maltophilia* y *Alcaligenes* sp en su totalidad fueron resistentes a plomo y arsénico; asimismo, Guzmán (2004) aisló Enterobacterias del río Alseseca (México), obteniendo recuentos de coliformes totales de 1100 NMP/100 ml, de 100 bacterias aisladas el 91% fueron representados por *Escherichia coli* (44%), *Klebsiella* sp (17%), *Serratia* sp (13%) y *Enterobacter* sp (10%).

Martínez et al. (2010) mediante el método Kirby Bauer lograron aislar bacterias tolerantes a metales pesados en el río Almendares (Cuba) de plomo y cromo a concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5 mM, entre los géneros bacterianos reportados se indican a *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Bacillus* y *Neisseria*; Por



otro lado, Soto et al. (2010) Aplicaron el método de ensayos de microdilución en tubo e indican que las bacterias expuestas a metales pesados, son capaces de tolerar sus efectos tóxicos, por lo tanto serían útiles para la biorremediación de metales pesados, los géneros *Micrococcus* y *Pseudomonas*, lograron la biotransformación de cromo, plomo y mercurio a concentraciones iniciales de 0.005 mg/l, 0.049 mg/l y mercurio 0.001 mg/l, respectivamente. Panigatti et al. (2012) confirman la aplicación de *Escherichia coli* en la remoción de cromo (VI) en efluentes contaminados disminuyéndolos a concentraciones de 200 mg/l, debido a que presenta mecanismos de destoxificación y reducción de cromo.

Muñoz et al. (2012) aislaron *Klebsiella sp* quien retuvo en 24 horas 90.2 mg/g de plomo y 19.3 mg/g de zinc, mediante la formación de biopelículas sobre los soportes sólidos, que poseen gran interés para su aplicación en biofiltros de metales pesados; Ramírez & Benítez (2013) obtuvieron la tolerancia y reducción de cromo (VI) por *Bacillus cereus* B1 quienes fueron aislados desde aguas residuales de una curtiembre, llegando a tolerar hasta 8000 ppm, removiendo el 100% de contaminante al cabo de 96 horas a partir de soluciones de cromo de 10, 30 y 50 ppm de Cr+6 en medio Luria Betani; González & Vargas (2016) reportan que las bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Pantoea* logran contrarrestar el efecto tóxico de los metales pesados debido a los genes de resistencia a Cd y Pb que poseen.

Navarrete (2017) en Tungurahua (Ecuador) aisló a los géneros bacterianos *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Moraxella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus* y *Kurthia*, de los cuales 3 mostraron resistencia a 700 ppm de mercurio, de 5 a 2000 ppm de plomo y un clon 900 ppm de cromo; también se cuenta con el estudio de Gutiérrez et al. (2017), quien reportó que *Pseudomonas aeruginosa* mostró tolerancia a Cu+2, Zn+2, Ba+2 y Se+4, para Cu+2 la concentración mínima inhibitoria (CMI) más alta se registró a 3 mM en el 82.6% de bacterias; para Zn+2, la CMI más elevada se determinó a 6 mM en el 47.8% de



bacterias; para el Ba+2, la CMI mayor se obtuvo a 4 mM en el 21.7% y para Pb la CMI se calculó en 2.5% en el 100% de las bacterias.

Figueroa (2020) desarrollo su trabajo en el estudio de bio-ensayos del lago Yahuarcocha y Determino la concentración letal media al 50% (CL50) de dicromato de potasio en 0.45 ppm, así mismo la CL50 de plomo 0.25 ppm, y la CL50 de la muestra ambiental obtenidas del punto profundo 55.19% V/V y del muelle 37.83 % V/V

Castro & Marín (2018) en su estudio concluyen que bacterias aisladas de agua superficial revelaron alta resistencia a metales pesados, obteniendo valores de CMI y CL50 muy elevados y superiores a 5000 mg/l, debido probablemente a las condiciones imperantes del ecosistema donde habitan. Donde el Cr+6 resultó ser muy tóxico, con mayores efectos Cr+3 y Pb+2, asimismo los efectos tóxicos de los metales presentaron la siguiente severidad Cr+6 > Cd+2 > Ni+2 > Cr+3 > Pb+2 y como toleran altos valores no pueden ser utilizadas como bioindicadores en los programas para el monitoreo ambiental de ecosistema. Muñoz et al. (2019) obtuvieron que las bacterias que presentaron las mayores tolerancias fueron *Bacillus licheniformis* SSR18 a Cd+2, Ni+2 y Zn+2, *Bacillus subtilis* SSR3 a Pb+2, *Serratia sp* SSR15 a Cu+2, *Serratia sp* SSR13 a Ag+1 y *Bacillus cereus* SSR01 a Cr+6, estos microorganismos fueron aislados de suelos del pasivo ambiental del proyecto minero Santa Rosa de Jangas y es probable que posean mecanismos para adaptarse, crecer y desarrollar en medios con metales pesados que posteriormente podrían ser usados en procesos biotecnológicos y biorremediación. Lema (2019) en Chimborazo (Ecuador) aislaron bacterias de los géneros *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus spp* y *Pseudomonas spp*, donde dos clones mostraron tolerancia hasta 750 µg/ml de cobalto, 5 a 250 µg/ml de mercurio y 4000 µg/ml de plomo.



Obando (2021) este trabajo de investigación se realizó con 385 muestras de agua del fundo privado. Se procesó los resultados por medio del análisis de varianza inter grupos con un valor p de 0.01 y un análisis post hoc de comparación de medias (Tuckey). Dentro de los principales resultados se determinó el efecto bactericida con mayor sensibilidad a una concentración de extracto bioactivo de 1%, 0.5% y 0.25% para cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* Contando con tamaños de halo de 16.44mm y 15.32mm, se obtuvo un efecto conservante a una concentración de 0.5% de extracto bioactivo. Con ello se confirma la eficacia del efecto bactericida y conservante del Alga *Ulva spp* en las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*

Yanchapanta (2022) quien hizo una evaluación bactericida de las nanopartículas in vitro en medios de cultivos sólidos (agar nutritivo), calculando el crecimiento de las bacterias en UFC/ml. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño factorial  $3^2$  contando con dos factores de tres niveles, siendo este análisis factorial significativo con valor  $p = 0.000$  la concentración de las AgNPs y un tiempo de exposición a la luz solar (1, 2 y 3 horas). Se concluyó que las nanopartículas de plata intervienen como agente bactericida frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas oryzae*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexneri*.

## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. *Citrobacter sp*

El género *Citrobacter sp* comprende un grupo de bacterias aerobias Gram negativas que se observan recurrentemente en el agua, el suelo, los alimentos, la vegetación y, además en los seres humanos y muchos otros animales, como flora intestinal beneficiosa (Meseguer, 2002).



Taxonomía

**Dominio:** Bacterías

**Filo:** Proteobacterias

**Clase:** Gramma proteobateria

**Orden:** Enterobacteriales

**Familia:** Enterobacteriaceae

**Género:** Citrobacter

### 2.2.2. *Pseudomonas* sp

*Pseudomonas* es el nombre con el que se representa a un grupo de bacterias aerobias gramnegativas de la familia *Pseudomonadaceae* que no utilizan glucosa y no tienen flagelos polares ni esporas (Holloway, 1969).

Taxonomía

**Dominio:** Bacterías

**Filo:** Proteobacterias

**Clase:** Gramma proteobateria

**Orden:** Pseudomonadales

**Familia:** Pseudomonadaceae

**Género:** *Pseudomonas*



### **2.2.3. Metales pesados**

Son un conjunto de 65 elementos conocidos por sus densidades superiores o iguales a 5 g/cm<sup>3</sup> y presentan diversas propiedades físicas, químicas y biológicas (Marrero et al., 2010).

Estos metales tienen que estar presentes en el medio ambiente, pero a pequeñas concentraciones, suficientes para el cumplimiento del ciclo biológico del ecosistema, pero si se encuentran en concentraciones más altas, aunque sean sutilmente, pueden ser tóxicos para los animales y especialmente el ser humano (Ramírez, 2008).

La sintomatología de la intoxicación del ser humano por metales pesados varía dependiendo del tipo de metal que se acumule en el cuerpo. Por ejemplo, la intoxicación por plomo suele producir dolor en las articulaciones y músculos, aumento de la presión arterial, dolor abdominal constante, dificultad de memoria y concentración, y anemia sin causa aparente (Ramírez, 2008).

Cuando se modifica el estado de oxidación, a diferencia de lo que ocurre con las sustancias orgánicas que son tóxicas, los metales pesados no pueden ser degradados.

### **2.2.4. Microorganismos y metales pesados**

Los microorganismos desempeñan un papel fundamental en el cambio de concentraciones en los metales, y su utilización en procedimientos de regeneración en diferentes medios acuáticos y superficies terrestres es crucial para la protección del medio ambiente (Núñez, 2007).

Entre la gran variedad de microorganismos, existen microorganismos resistentes y/o tolerantes que son de especial importancia como eliminadores de metales en lugares contaminados.



### **2.2.5. Mercurio**

Es un metal blanco plateado extremadamente tóxico con una débil respuesta térmica cuyo número atómico es el 80 y su símbolo es Hg, es el único que se descubre en estado líquido en el cero absoluto. Tiene una elevada tensión superficial y una gran capacidad para amalgamarse con prácticamente todos los metales (Ramírez, 2008).

Aunque no es obligatorio para ningún proceso biológico, se acumula en la mayoría de los seres vivos. La ingestión de significativas de mercurio o la exposición a los mismos puede provocar anomalías conductuales y neurológicas, como temblores, insomnio, pérdida de memoria, efectos neuromusculares, cefalea y disfunciones cognitivas y motoras.

### **2.2.6. Plomo**

Es un metal pesado de color gris azulado con un punto de fusión bajo que tiene como número atómico el 82 su símbolo es Pb, no se encuentra con frecuencia en la naturaleza. Para generar compuestos de plomo, suele encontrarse en combinación con dos o más elementos adicionales. La intoxicación por plomo es una de las más comunes de las que se presentan por exposiciones a metales (Valdivia, 2019).

La exposición a metales pesados está asociada con una serie de efectos nocivos para la salud, entre los que está incluido el cáncer, gingivitis, transformaciones psicológicas, aborto espontáneo, entre muchos otros. A pesar de que varias sustancias son esenciales para el funcionamiento bioquímico de los animales y el ser humano, pueden ser perjudiciales cuando se exponen en grandes cantidades.



### **2.2.7 Microorganismos resistentes a metales pesados**

Se define como la capacidad de un microorganismo para sobrevivir al efecto tóxico de dichos elementos, esto es resultado de un mecanismo de desintoxicación generado a partir de la exposición directa al metal, o sea, codificado genéticamente, a esta característica se le denomina “resistente” (Núñez, 2007).

### **2.2.8. Microorganismos tolerantes a metales pesados**

Es un término utilizado para describir microorganismos que tienen rasgos estructurales y metabólicos inherentes que les permiten sobrevivir en presencia de metales, como paredes celulares impermeables, mediante la capacidad de expulsar metales o la capacidad de inducir cambios de entorno que afectan a la toxicidad de los metales, a esta capacidad se denomina “tolerante” (Núñez, 2007).

Cada uno tiene objetivos distintos. Un microorganismo tolerante a metales pesados invierte en métodos destinados a contener los daños causados por el patógeno, mientras que el un microorganismo resistente a metales pesados utiliza mecanismos destinados a reducir el efecto del metal pesado.

Las características de los microorganismos resistentes o tolerantes, o ambos, pueden emplearse en la desintegración de los metales pesados (Marrero et al., 2010).

La mayoría de ellos incluyen:

- a) elementos celulares que recogen iones y reducen su toxicidad.
- b) Enzimas que alteran el estado redox de los metales o metaloides, cambiándolos a formas menos peligrosas.



c) Transportadores de membrana que eliminan las especies peligrosas del citoplasma de la célula.

Tanto las mutaciones (cambios en la secuencia de bases cromosómicas) como la transferencia de material genético extra cromosómico procedente de otras bacterias hacen que éstas desarrollen resistencia, esta puede ser a su vez natural o adquirida. La natural se refiere a la resistencia que se transmite verticalmente de generación en generación. La adquirida se produce horizontalmente a través de plásmidos u otros elementos genéticos móviles como integrones y transposones, estos últimos no sólo permiten la transmisión de la resistencia a generaciones futuras, sino también a otras especies bacterianas. De este modo, una bacteria puede desarrollar resistencia a uno o varios metales sin entrar en contacto con ellos (Fernández et al., 2003).

### **2.2.9. Cualidades de las bacterias para remediar aguas contaminadas por metales pesados.**

Cuando se exponen a las soluciones con metales, los microorganismos utilizados como biosorbentes que han sido aislados de hábitats dañados retienen los metales pesados durante periodos de tiempo relativamente breves (Marrero et al., 2010).

Dado que las cepas resistentes pueden aprovecharse como alternativa en la desintoxicación de ecosistemas dañados por agentes tóxicos, la resistencia bacteriana a los metales pesados, sus procesos y determinantes genéticos han sido objeto de especial atención en las últimas décadas (Moraga, Merino & Mondaca, 2003).

Esto disminuye los costes relacionados con un procedimiento de remediación, ya que suprime la necesidad de alimentar el sistema con nutrientes porque la bacteria no requiere un metabolismo activo.



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación es de enfoque cuantitativo-transversal ya que los resultados son producto de una medición de laboratorio en un periodo de tiempo determinado de agosto a octubre del año 2022, de alcance explicativo, ya que busca relaciones causales de la capacidad de tolerancia de las bacterias a los metales pesados plomo y mercurio en las bacterias de estudio, de diseño cuasiexperimental en razón de que no se manipulan los efectos de las concentraciones crecientes de los metales pesados plomo y mercurio sobre el crecimiento de las bacterias, de tipo básica ya que se determinará su tolerancia mediante el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) (Hernández et al., 2014).

#### 3.2. TAMAÑO DE MUESTRA A EVALUAR

En la investigación se desarrolló bajo un enfoque de muestreo no probabilístico por conveniencia, el cual estará conformado por un total de 36 muestras, de las cuales cada 12 muestras procedían de los puntos de muestreo (PM) PM1, PM2 y PM3, dichas bacterias aisladas del río Torococha fueron comparadas entre los distintos puntos de muestreo.

**Tabla 1.** Distribución de las muestras por zonas de muestreo.

Meses de muestreo en el 2022	Puntos de muestreo del río Torococha			Total
	Zona oeste (PM1)	Zona centro (PM2)	Zona este (PM3)	
Agosto	4	4	4	12
Setiembre	4	4	4	12
Octubre	4	4	4	12
Total	12	12	12	36

### 3.3. METODOLOGÍA

Aislamiento y determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro de mercurio y plomo en bacterias aisladas del río Torococha.

#### a. Colección de muestras de agua del río Torococha

Las muestras de agua han sido recolectadas en frascos de vidrio de 1 litro esterilizado en el laboratorio con un volumen del frasco en aproximadamente 750 ml de contenido, con la finalidad de que al llegar al laboratorio pueda ser homogenizado. Dichas muestras han sido trasladadas y analizadas en el laboratorio de Botánica General de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno, el cual cuenta con equipos para el aislamiento microbiológico correspondiente.

#### b. Aislamiento de *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp* de muestras de agua del río Torococha

**Método:** Cultivo in vitro en agar Mac Conkey



**Fundamento:** En el agar Mac Conkey, las peptonas como fuente de nitrógeno, aportan nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias, donde la lactosa es el carbohidrato fermentable, y la presencia de sales biliares y de cristal violeta, son las sustancias químicas que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora Gram positiva (Laboratorios Britania).

**Procedimiento:**

Las muestras de agua del río Torococha, previamente homogenizadas en sus frascos de colección fueron cultivadas en placas de agar Mac Conkey anteriormente autoclavados por extensión transfiriendo 0.1 ml de la muestra y son dispersadas por medio de un asa de Digrafsky esterilizado en un mechero de alcohol, a continuación, se incubaron por un lapso de 48 horas a 37 °C en una incubadora microbiológica.

Luego del tiempo de incubación, mediante subcultivos se realiza el aislamiento hasta cultivo puro de cada bacteria. La identificación de cada bacteria se realizó mediante la tinción Gram y pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS y SIM (Mendo, 2003).

En el agar Mac Conkey las características culturales son significativas para la identificación preliminar en el cual *Citrobacter* sp presenta colonias incoloras. Las colonias se observarán al microscopio estereoscópico. Las colonias sospechosas de ser *Citrobacter* sp, fueron evaluadas mediante pruebas bioquímicas, tales como Citrato (+), TSI (A/A variable o K/A variable), Gas (+), H<sub>2</sub>S (+/-), Lisina (-), Movilidad (+) e Indol (+/-).

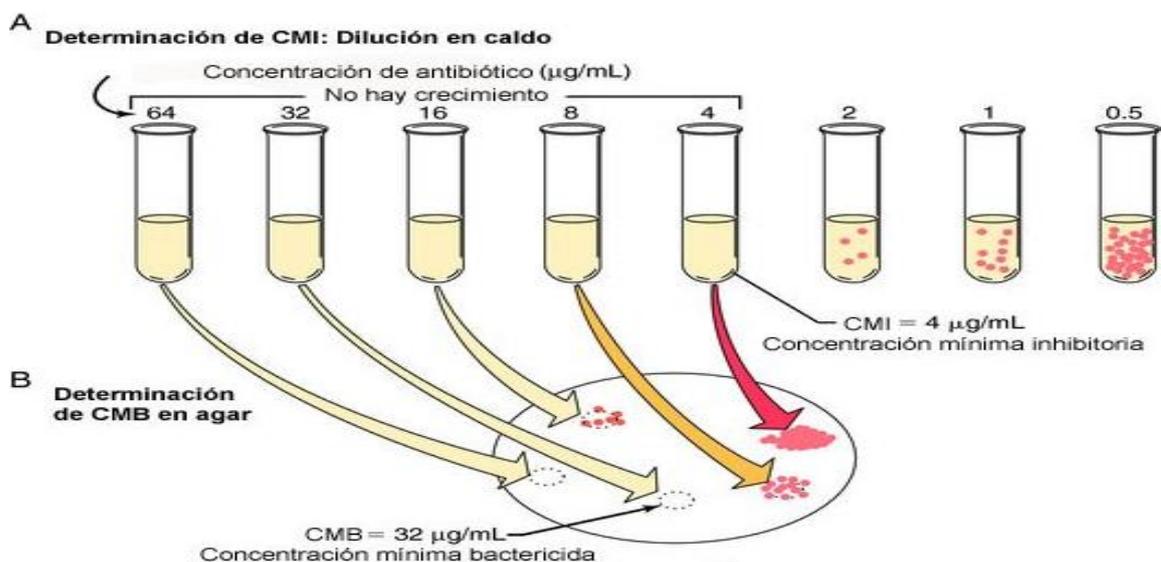
En el agar Mac Conkey, las colonias de *Pseudomonas* sp se muestran en forma de colonias irregulares, de incoloras a color rosa (BD). Para su confirmación fueron subcultivadas en agar *Pseudomonas* (Himedia) mediante estrías con el asa de siembra, en

ella desarrollaron colonias verdosas tenues debido al pigmento que producen, seguidamente se confirmaron con las pruebas bioquímicas de oxidasa (+), Gas (-), Motilidad (+), Indol (-), H<sub>2</sub>S (-) (Velasco et al., 2011).

### c. Cálculo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de mercurio y plomo en bacterias del río Torcocha

**Método:** Ensayos de microdilución en tubo.

**Fundamento:** La CMI se interpreta como la concentración de antibiótico o metal pesado que contiene el tubo de ensayo que inhibe el crecimiento visible de cada bacteria, todos ellos son comparados con cada uno de los tubos de los controles tanto positivo y negativo (Horna et al., 2005; Camacho, 2014), tal como se muestra en el esquema siguiente:



**Figura 1.** Cálculo de la concentración mínima inhibitoria de antibióticos a utilizar para metales pesados en bacterias.



### **Procedimiento:**

La CMI de Hg y Pb en bacterias aisladas del río Torococha se determinó según los procedimientos realizados por Acevedo & Severiche (2013), Patermina et al. (2017), Gutiérrez et al. (2017) y Muñoz et al. (2019), quienes recomiendan el siguiente método:

A partir de un inóculo estandarizado ajustado al estándar 0.5 de la escala McFarland de cada bacteria aislada se inocularán en tubos que contendrán un ml de caldo infusión cerebro corazón estéril, sobre ellos se agregará 1 ml de las concentraciones de Hg de 10 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l y 200mg/l; Pb de 500 mg/l, 1000 mg/l, 1500 mg/l y 2000 mg/l. Los cultivos se incubaron a 30 °C, por 18 horas, donde la presencia de la turbidez del contenido de los tubos, indicará la presencia del crecimiento bacteriano. Los tratamientos se realizan por triplicado.

#### **d. Variables a estudiar:**

- **Variable independiente:** CMI y CMB de Pb y Hg
- **Variable dependiente:** Supervivencias de géneros bacterianos

#### **e. Análisis bioestadístico de datos:**

Se realizó el análisis de los supuestos bioestadísticos del análisis de varianza de una vía para determinar las diferencias significativas de la CMI de las concentraciones de los metales pesados plomo y mercurio en cada bacteria mediante la homogeneidad de las varianzas (test de Levene) y distribución normal (test de Shapiro-Wilk), de no cumplirse los supuestos bioestadísticos de acuerdo a Berlanga & Rubio (2012) se procedió mediante el test no paramétrico de Kruskal Wallis.

Determinación de la concentración mínima bactericida de mercurio y plomo en bacterias aisladas del agua del río Torococha.



**Método:** difusión en discos de papel en agar Muller Hinton.

**Procedimiento:**

Para determinar la CMB se realiza el método aplicado por Castro & Marín (2018). Al inicio se activan a las bacterias en caldo infusión cerebro corazón a  $37 \pm 2$  °C por 24 horas, con la finalidad de obtener una turbidez del estándar 0.5 de McFarland. En placas de agar Muller Hinton (MH) se inocularon con hisopos de algodón estériles en toda la superficie y los bordes del agar para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Sobre ella se colocaron discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron impregnados con 10  $\mu$ l de la solución de cada metal a la concentración correspondiente, presionando levemente con la finalidad de asegurar su contacto, se incubaron de  $37 \pm 2$  °C por 24 horas. Luego del periodo de incubación se miden los halos de inhibición del crecimiento bacteriano con un vernier.

Para las bacterias, la muerte significa una pérdida irreversible de la capacidad de reproducirse (crecer y multiplicarse).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estadística descriptiva a la que se sometió las 36 muestras de agua de los tres puntos de muestreo dio los siguientes resultados:

#### 4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

**Tabla 2.** Resultados de los estadísticos descriptivos de la bacteria *Citrobacter* sp.

<i>Citrobacter</i> sp	punto de muestreo	N	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Cuartil 1	Mediana	Cuartil 3	Máximo
Hg CMI	pm1	12	45	31.77	10	10	50	50	100
	pm2	12	166.7	49.2	100	100	200	200	200
	pm3	12	129.2	54.2	50	100	100	200	200
Hg CMB	pm1	12	72.5	51.9	10	50	50	100	200
	pm2	12	141.7	51.5	100	100	100	200	200
	pm3	12	158.3	51.5	100	100	200	200	200
Pb CMI	pm1	12	1292	396	500	1000	1500	1500	2000
	pm2	12	1708.3	257.5	1500	1500	1500	2000	2000
	pm3	12	1500	369	1000	1125	1500	1875	2000
Pb CMB	pm1	12	1208	396	500	1000	1500	1500	1500
	pm2	12	1750	261.1	1500	1500	1750	2000	2000
	pm3	12	1791.7	257.5	1500	1500	2000	2000	2000

En la tabla 2 se presentan los principales estadísticos descriptivos pertenecientes a la bacteria *Citrobacter* sp como son: el promedio aritmético, la desviación estándar, mínimo, máximo, cuartil1, mediana, cuartil 3, donde cada punto de muestreo tiene 12 ensayos o muestras.



Hg CMI: En el primer punto de muestreo presenta una concentración mínima inhibitoria de 45 mg/l de mercurio respecto a la bacteria *Citrobacter* sp, en el segundo punto de muestreo la concentración mínima inhibitoria de mercurio según la bacteria *Citrobacter* sp de 166.7 mg/l y en el tercer punto de muestreo la concentración mínima inhibitoria de mercurio respecto a la bacteria *Citrobacter* sp es de 129.2 mg/l. En estas concentraciones presentadas de mercurio la bacteria *Citrobacter* sp ya no tiene crecimiento bacteriano.

Hg CMB: En el primer punto de muestreo se presenta que la concentración mínima bactericida de 72.5 mg/l de mercurio respecto a la bacteria *Citrobacter* sp, en el segundo punto de muestreo la concentración mínima bactericida es de 141.7 mg/l de mercurio según la bacteria *Citrobacter* sp, finalmente en el tercer punto de muestreo la concentración mínima bactericida en la bacteria *Citrobacter* sp es de 158.3 mg/l de mercurio.

Pb CMI: El primer punto de muestreo cuenta con una concentración mínima inhibitoria de plomo con 1292 mg/l respecto a la bacteria *Citrobacter* sp, el segundo punto de muestreo manifiesta una concentración mínima inhibitoria de 1708.3 mg/l de plomo según la bacteria *Citrobacter* sp, finalmente el tercer punto de muestreo demuestra una concentración mínima inhibitoria de 1500 mg/l de plomo respecto a la bacteria *Citrobacter* sp. En estas cantidades de plomo la bacteria *Citrobacter* sp detiene su crecimiento bacteriano.

Pb CMB: En el primer punto de muestreo se observa una concentración mínima bactericida de mercurio de 1208 mg/l respecto a la bacteria *Citrobacter* sp, el segundo punto de muestreo cuenta con una concentración mínima bactericida de mercurio de 1750 mg/l respecto a la bacteria *Citrobacter* sp y por último en el tercer punto de muestreo

manifiesta una concentración mínima bactericida de mercurio de 1791.7 ml/l en la bacteria *Citrobacter sp.*

Resultados de acuerdo a lo esperado ya que cuando se exponen a las soluciones con metales, los microorganismos utilizados como biosorbentes que han sido aislados de hábitats dañados retienen los metales pesados durante periodos de tiempo relativamente cortos (Marrero et al., 2010).

**Tabla 3.** Resultados de los estadísticos descriptivos de la bacteria *Pseudomonas sp.*

<i>Pseudomonas sp</i>	punto de muestreo	N	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	cuartil 1	Mediana	cuartil 3	Máximo
Hg CMI	pm1	12	49.2	51.2	10	10	50	50	200
	pm2	12	146.7	70.4	10	100	200	200	200
	pm3	12	141.7	51.5	100	100	100	200	200
Hg CMB	pm1	12	65	65.4	10	20	50	50	200
	pm2	12	150	52.2	100	100	150	200	200
	pm3	12	166.7	49.2	100	100	200	200	200
Pb CMI	pm1	12	791.7	257.5	500	500	1000	1000	1000
	pm2	12	1458	620	500	750	1500	2000	2000
	pm3	12	1542	396	1000	1125	1500	2000	2000
Pb CMB	pm1	12	666.7	246.2	500	500	500	1000	1000
	pm2	12	1583	597	500	1125	2000	2000	2000
	pm3	12	1583	359	1000	1500	1500	2000	2000

En la tabla 3 se presentan los principales estadísticos descriptivos referentes a la bacteria *Pseudomonas sp* en los tres puntos de muestreo como son: El promedio aritmético, la desviación estándar, mínimo, máximo, cuartil1, mediana, cuartil 3, donde cada punto de muestreo tiene 12 ensayos o muestras.



Hg CMI: en el primer punto de muestreo se observa que la concentración mínima inhibitoria es de 45.4 mg/l de mercurio respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, en el segundo punto de muestreo se tiene una concentración mínima inhibitoria de mercurio de 146.7 mg/l en la bacteria *Pseudomonas sp*, finalmente en el tercer punto de muestreo se tiene una concentración mínima inhibitoria según la bacteria *Pseudomonas sp* de 141.7 mg/l de mercurio. A partir de estas concentraciones en los puntos de muestreo la bacteria *Pseudomonas sp* manifiesta inhibición bacteriana.

Hg CMB: En el primer punto de muestreo se observa la concentración mínima bactericida de mercurio siendo 65 mg/l de respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, en el segundo punto de muestreo la concentración mínima bactericida es de 150 mg/l mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp*, en el tercer punto de muestreo se observa la concentración mínima bactericida de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp* de 166.7 mg/l.

Pb CMI: El primer punto de muestreo se tiene una concentración mínima inhibitoria de plomo que representa a 791.7 mg/l en la bacteria *Pseudomonas sp*, en el segundo punto de muestreo la concentración mínima inhibitoria de plomo es de 1458 mg/l en la bacteria *Pseudomonas sp*, en el tercer punto de muestreo se presenta la concentración mínima inhibitoria de plomo en la bacteria *Pseudomonas sp* con un valor de 1542 mg/l.

Pb CMB: En el primer punto de muestreo se presenta una concentración mínima bactericida de 666.7 mg/l de plomo respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, en el segundo punto de muestreo la concentración mínima bactericida de plomo es de 1583 mg/l respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, finalmente en el tercer punto de muestreo se observa que la concentración mínima bactericida de plomo es de 1583 mg/l en la bacteria *Pseudomonas sp*.



## 4.2. SUPUESTOS BIOESTADÍSTICOS

### Análisis de normalidad e igualdad de varianzas

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en este trabajo de investigación se desarrolló el análisis de la normalidad e igualdad de varianzas de las variables en estudio así procedió con la prueba de hipótesis y la prueba bioestadística correspondiente.

Dado que son tres puntos independientes de muestreo pm1 de 12 muestras, pm2 de 12 muestras y pm3 de 12 según Berlanga & Rubio (2012) existen dos alternativas para esta situación que son: el análisis de varianza y la prueba de Kruskal-Wallis ambos para determinar la diferencia significativa en los puntos de muestreo de *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp* frente a CMI, CMB de mercurio y plomo.

El análisis de varianza es una prueba paramétrica en el que deben cumplirse los supuestos bioestadísticos de normalidad y varianzas iguales.

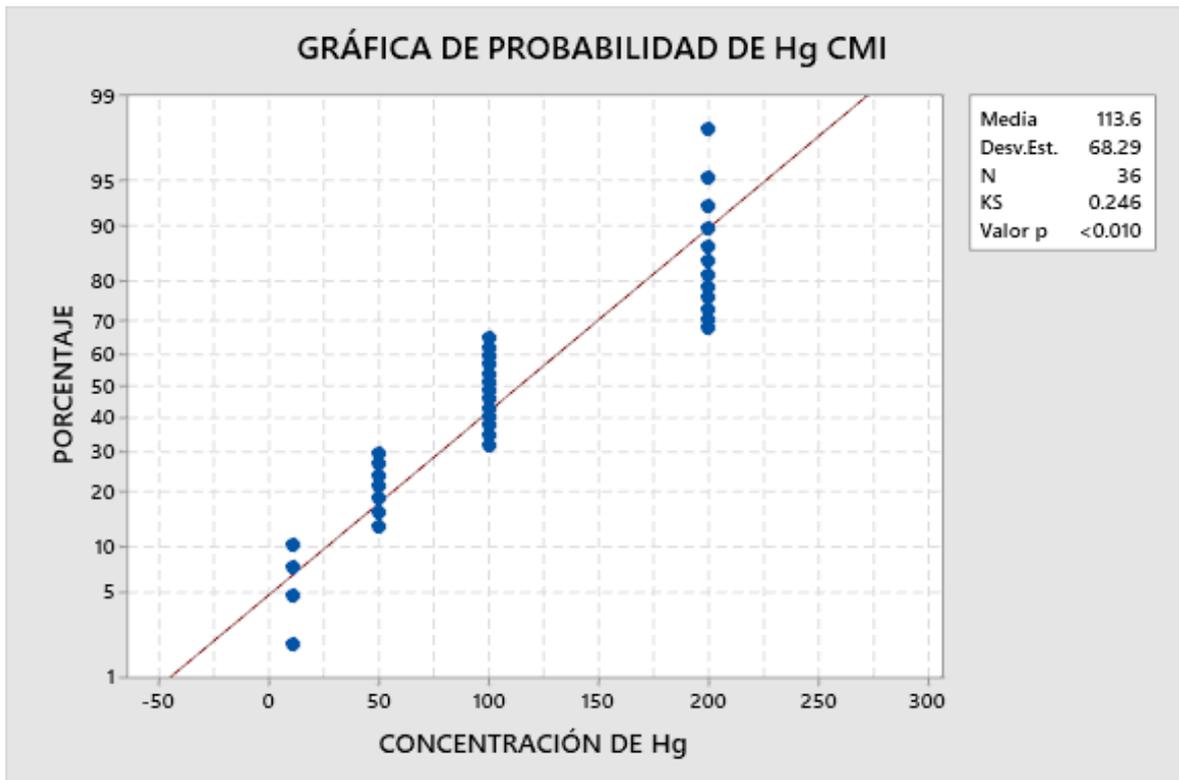
La prueba de Kruskal-Wallis es un estadístico no paramétrico que se utiliza solo cuando no se cumplen los supuestos estadísticos del análisis de varianza.

Para el análisis de normalidad se realiza mediante la prueba de Kolmogorov – Smirnov y para la igualdad de varianzas mediante test de Levene.

### Análisis de los supuestos de la bacteria *Citrobacter sp* según Hg y Pb

Se procedió analizar los supuestos bioestadísticas de normalidad y varianzas iguales.

## Normalidad



**Figura 2.** Gráfica de normalidad de la CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

En la figura 2 de probabilidad normal se observa que los puntos se alejan de la normalidad teórica de línea roja por lo tanto gráficamente podemos dudar de la normalidad.

Se procedió con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov.

### Hipótesis

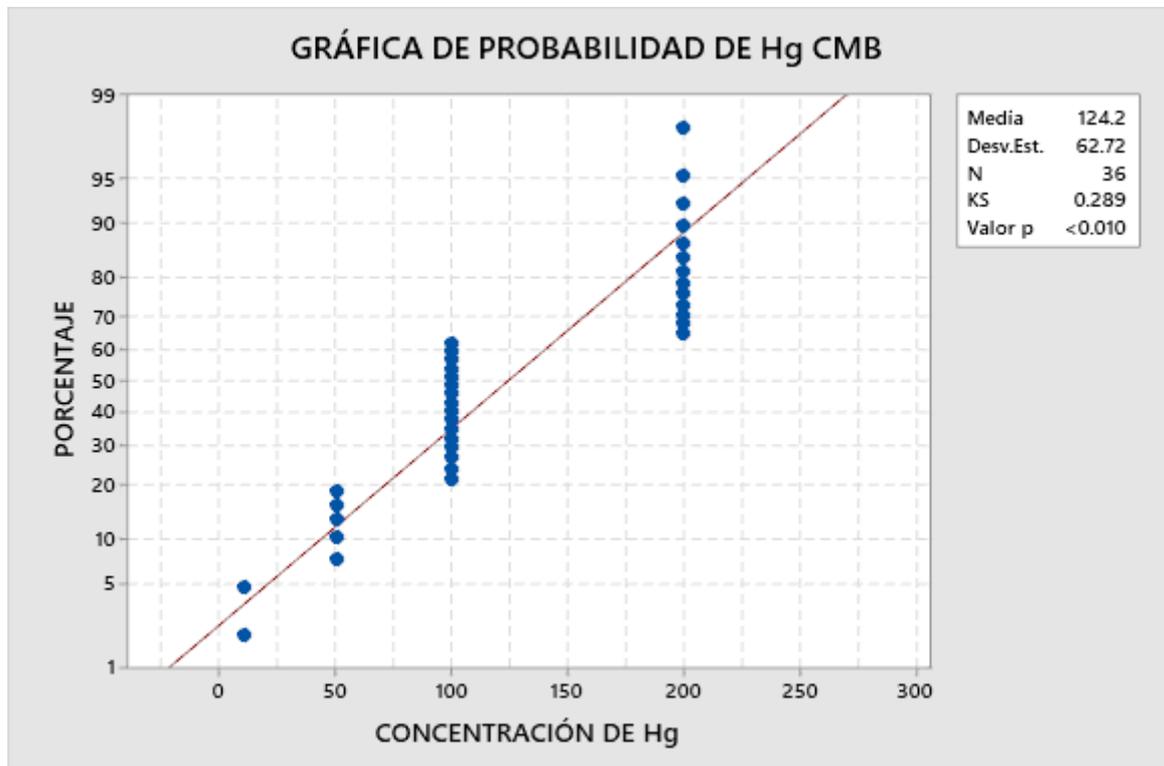
$H_0$ : la CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Citrobacter sp* tiene distribución normal

$H_a$ : la CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Citrobacter sp* no tiene distribución normal

Nivel de confianza 95% (0.95), nivel de significancia 5% (0.05)

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

Dado que el valor  $p$  es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ : la CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Citrobacter* sp no tiene distribución normal a un nivel de confianza del 95%.



**Figura 3.** Gráfica de normalidad de Hg para el cálculo de CMB en la bacteria *Citrobacter* sp.

En la figura 3 de probabilidad normal se observa que los puntos se alejan de la normalidad teórica de línea roja por lo tanto gráficamente podemos dudar del supuesto normalidad.

Se procedió con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov

**Cuya hipótesis estadística es:**

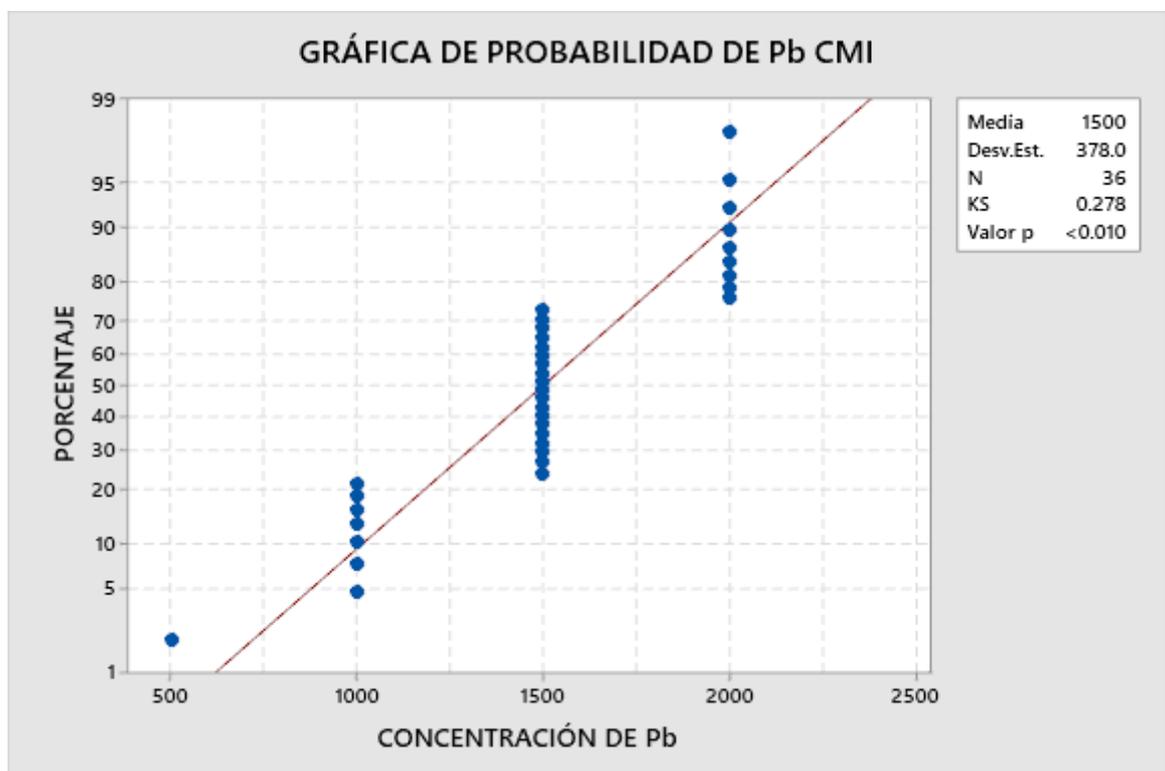
$H_0$ : La CMB de mercurio (Hg) respecto a la bacteria *Citrobacter* sp tiene distribución normal.

$H_a$ : La CMB de mercurio (Hg) respecto a la bacteria *Citrobacter* sp no tiene distribución normal.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor p es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ :  
La CMB de mercurio (Hg) respecto a la bacteria *Citrobacter* sp no tiene distribución normal.



**Figura 4.** Gráfica de normalidad de la CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter* sp.

De la figura 4 se de CMI de plomo (Pb) no coinciden inclusive habiendo algunos que están muy lejanos, estos resultados advierten de que esta variable no tenga distribución normal.

Se procedió con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov

**Cuya hipótesis estadística es:**

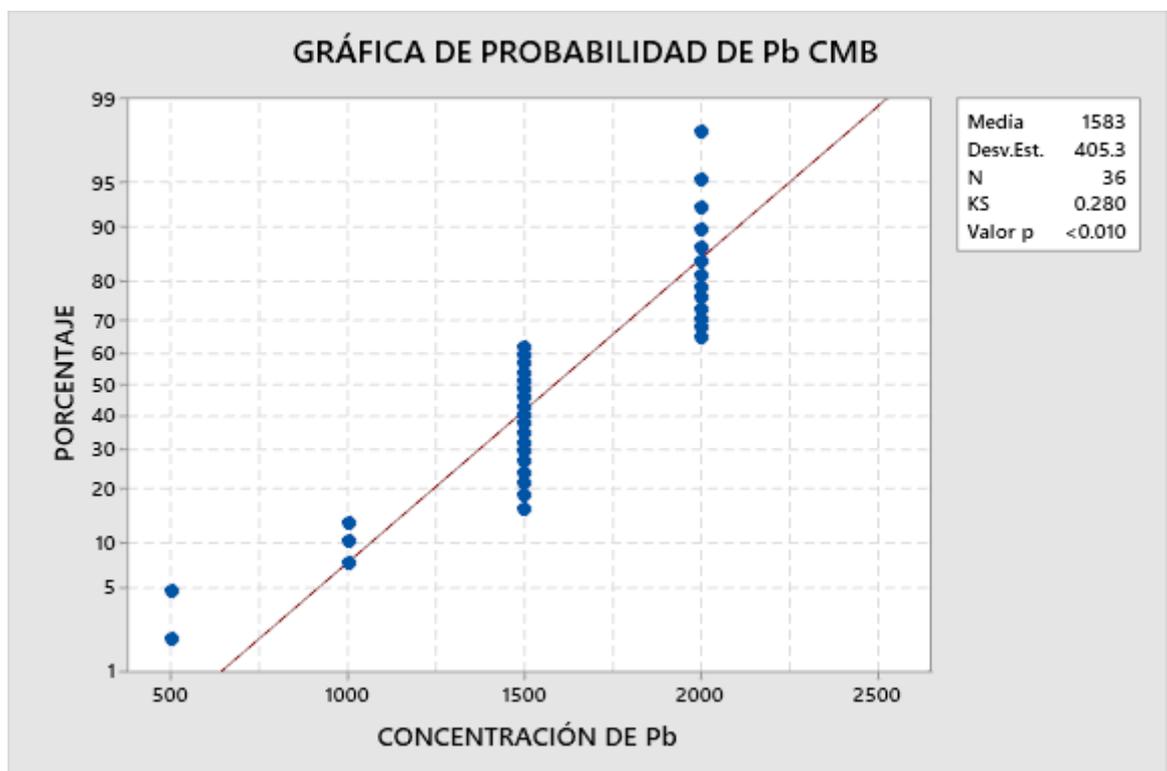
$H_0$ : la CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Citrobacter sp* tiene distribución normal

$H_a$ : la CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Citrobacter sp* no tiene distribución normal

**Nivel de significancia**  $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor p es de 0.01 que el nivel de significancia 0.05 se acepta  $H_a$ : la CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Citrobacter sp* no tiene distribución normal.



**Figura 5.** Gráfica de normalidad de Pb respecto a la CMB en la bacteria *Citrobacter sp*.

De la figura 5 se observa que el gráfico de probabilidad teórica de rojo y los puntos respecto a la CMB de plomo (Pb) en la bacteria *Citrobacter sp*, que no coinciden aglomerándose en 500, 1000, 1500, 2000, mg/l respectivamente, estos resultados sugieren que esta variable no tenga distribución normal.



Se procedió con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov

**Cuya hipótesis estadística es:**

$H_0$ : La CMB de plomo respecto en la bacteria *Citrobacter* sp tiene distribución normal.

$H_a$ : La CMB de plomo respecto en la bacteria *Citrobacter* sp no tiene distribución normal.

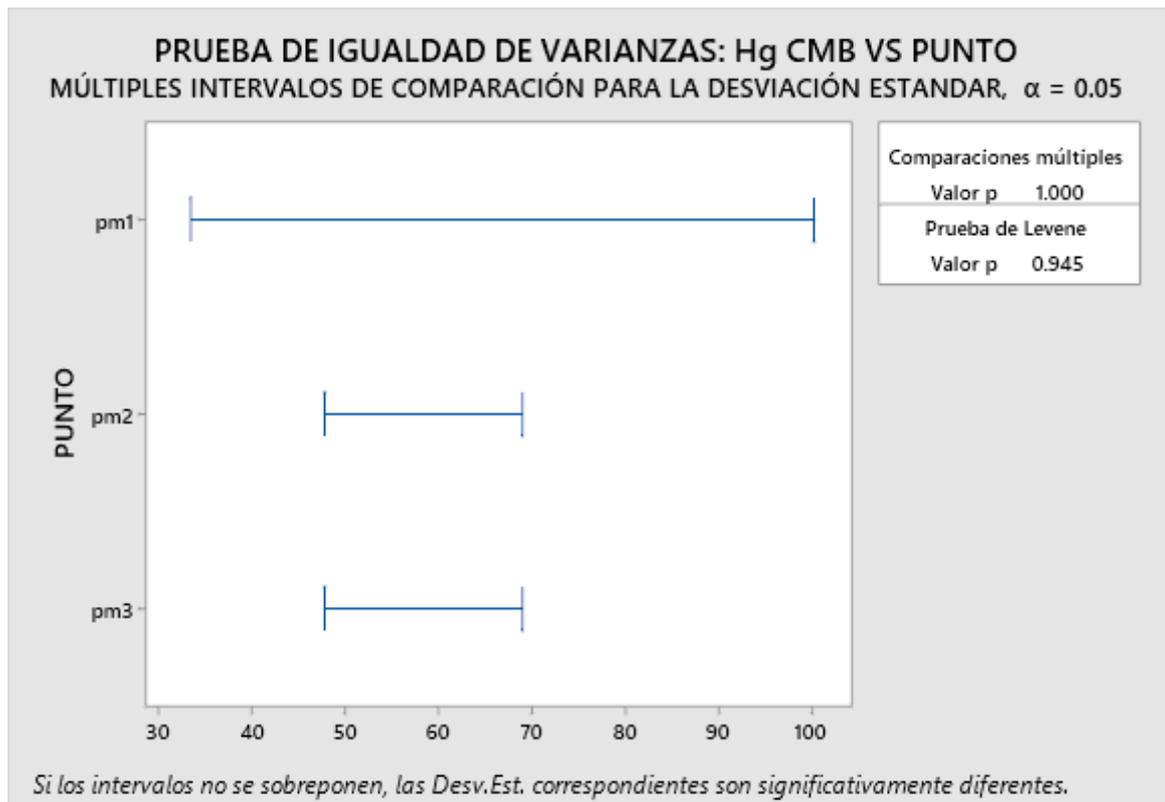
**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor p es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ :

La CMB de plomo respecto en la bacteria *Citrobacter* sp no tiene distribución normal.

**Igualdad de varianzas de la bacteria *Citrobacter* sp según Hg y Pb**



**Figura 6.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo de la CMB de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

De la figura 6 se aprecia que las varianzas de los puntos de muestreo respecto CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* comparten intervalos en el eje X por ello sugiere igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

$H_0$ : Todas las varianzas de los puntos tres de muestreo son iguales respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

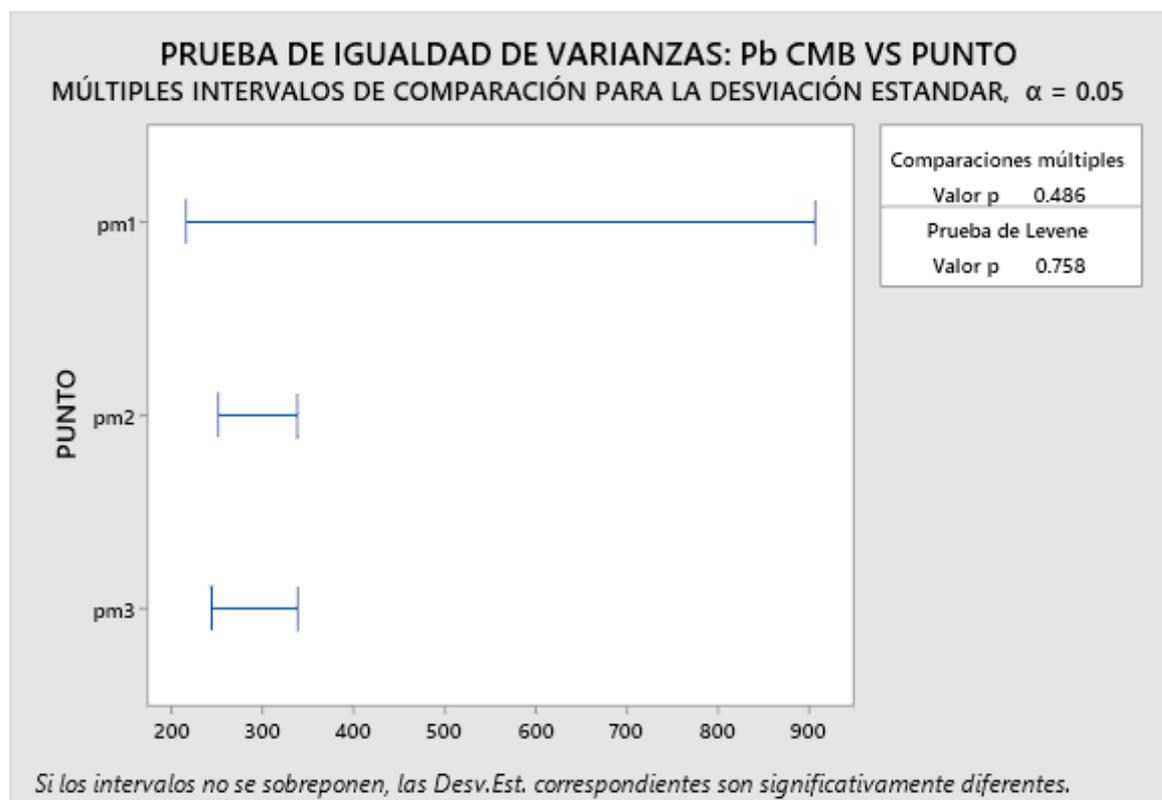
$H_a$ : Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$**

**Tabla 4.** Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	1.000
Levene	0.06	0.945

De la tabla 4 y figura se tiene un nivel de valor p de  $0.945 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar  $H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*



**Figura 7.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Citrobacter sp.*



De la figura 7 se aprecia que las varianzas de la CMB de plomo en la bacteria *Citrobacter*, los tres puntos de muestreo coinciden en sus intervalos en el eje X por ello insinúa igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Citrobacter* sp.

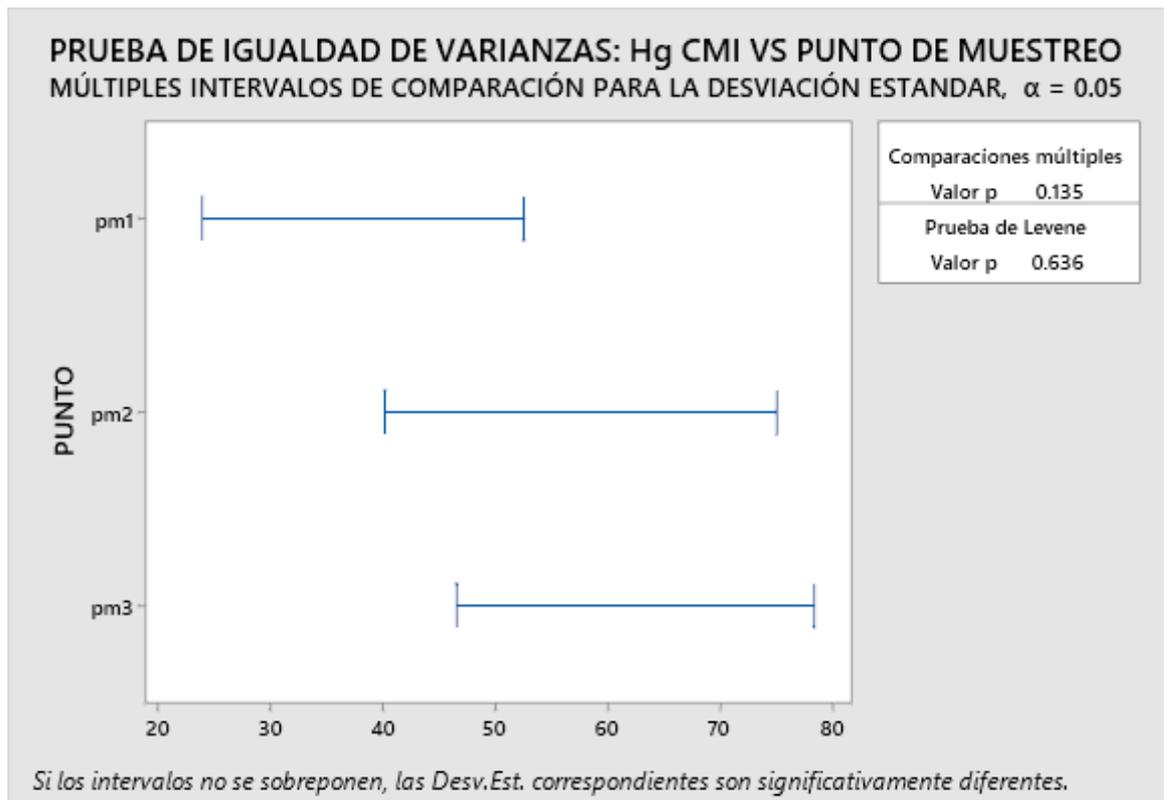
H<sub>a</sub>: Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Citrobacter* sp.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 5.** Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo de CMB de Pb en la bacteria *Citrobacter* sp.

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.486
Levene	0.28	0.758

De la tabla 5 y figura 7 se tiene un nivel de valor p de  $0.758 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Citrobacter* sp.



**Figura 8.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

De la figura 8 se aprecia que las varianzas de CMI en Hg de *Citrobacter sp* en los distintos puntos de muestreo son similares en sus intervalos en el eje X por ello insinúa igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para garantizar los resultados.

### Hipótesis

$H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales en CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp*

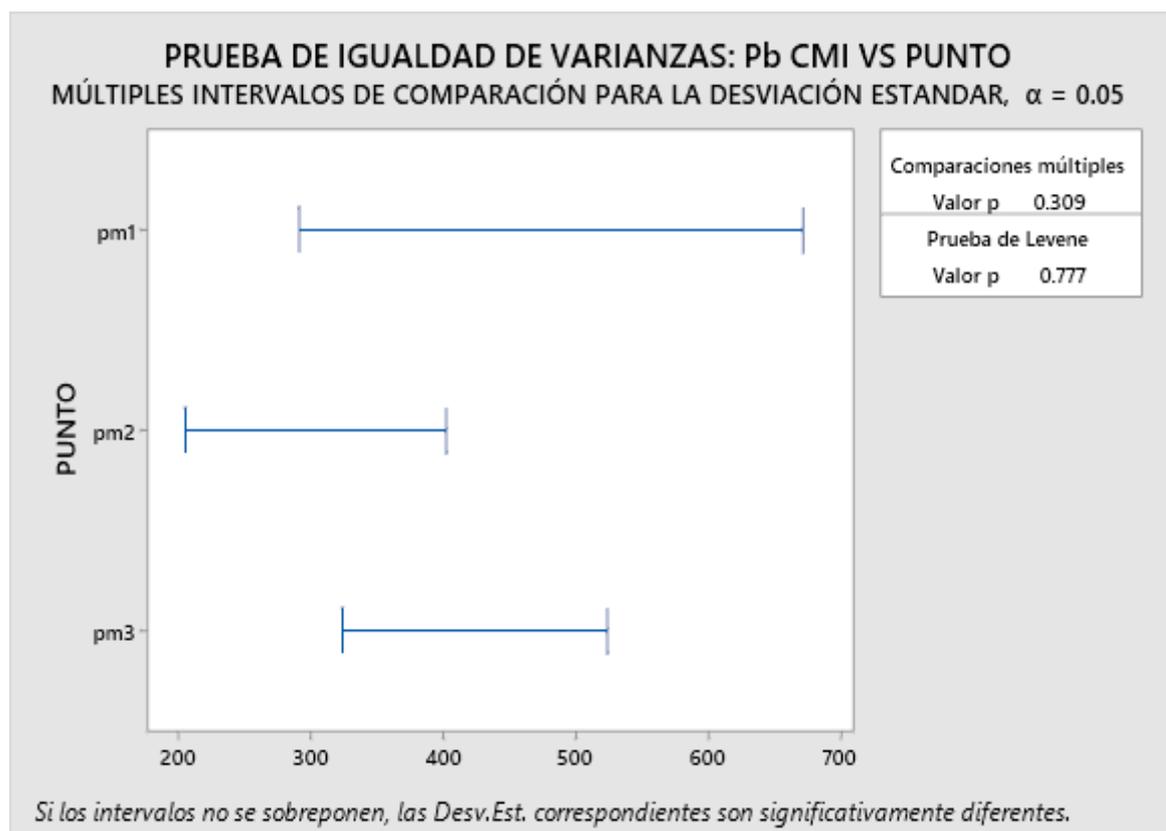
$H_a$ : Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes en CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp*

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 6.** Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.135
Levene	0.46	0.636

De la tabla 6 y figura 8 se tiene un nivel de valor p de  $0.636 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar  $H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales en CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter sp*



**Figura 9.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp.*

De la figura 9 se aprecia que las varianzas en los diferentes tres puntos de muestreo respecto a la CMI en Pb en la bacteria *Citrobacter sp* son similares en sus intervalos en el eje X por ello se sugiere una aparente igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales en CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp*

H<sub>a</sub>: Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes en CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp*

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 7.** Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp*

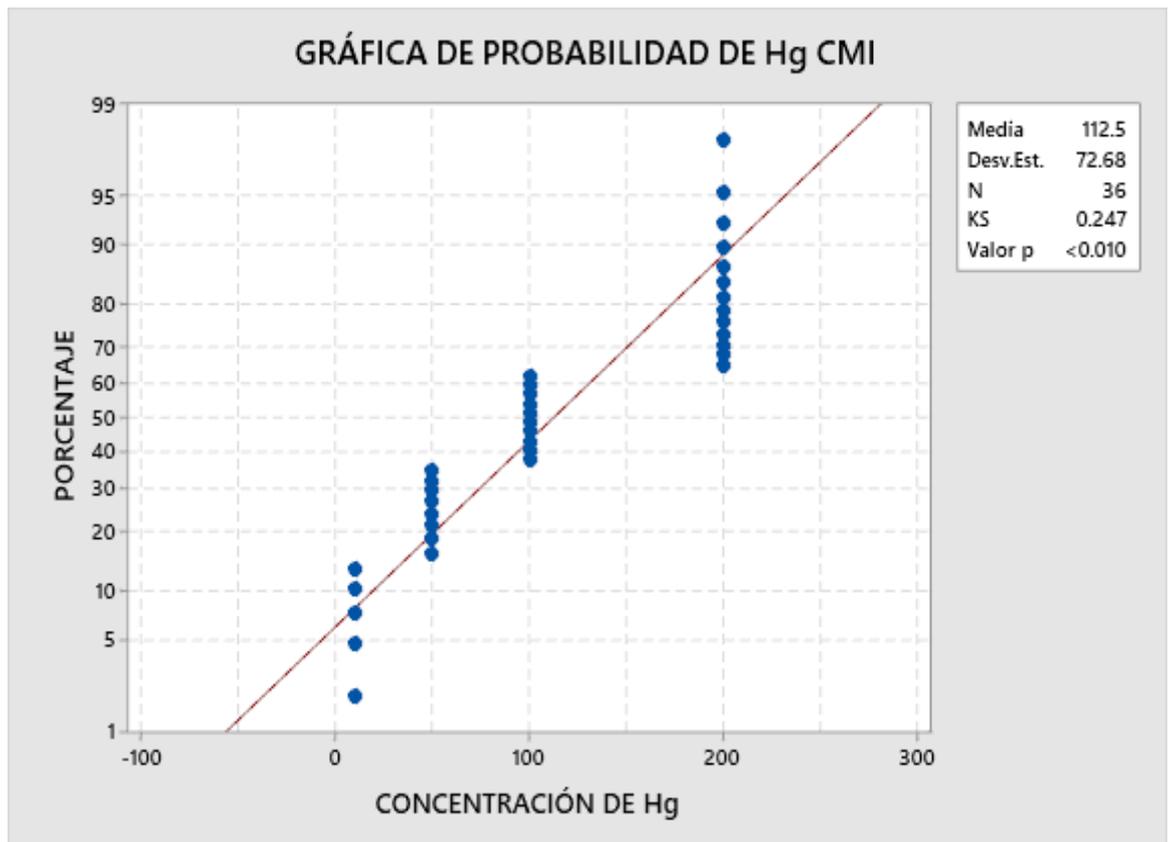
Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.303
Levene	0.64	0.777

De la tabla 7 y figura 9 se tiene un nivel de valor p de  $0.777 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales en CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp*.

### Análisis de los supuestos de la bacteria *Pseudomonas sp* según Hg y Pb

Se procedió analizar los supuestos bioestadísticas de normalidad y varianzas iguales.

### Normalidad



**Figura 10.** Gráfica de normalidad de la CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

De la figura 10 se observa que el gráfico de probabilidad teórica de rojo y los puntos de CMI de mercurio (Hg) en las bacterias *Pseudomonas sp.*, donde se presenta que los datos del presente estudio no se ajustan a la línea de normalidad teórica.

Se procedió mediante la prueba de Kolmogoro-Smirnov

**Hipótesis**

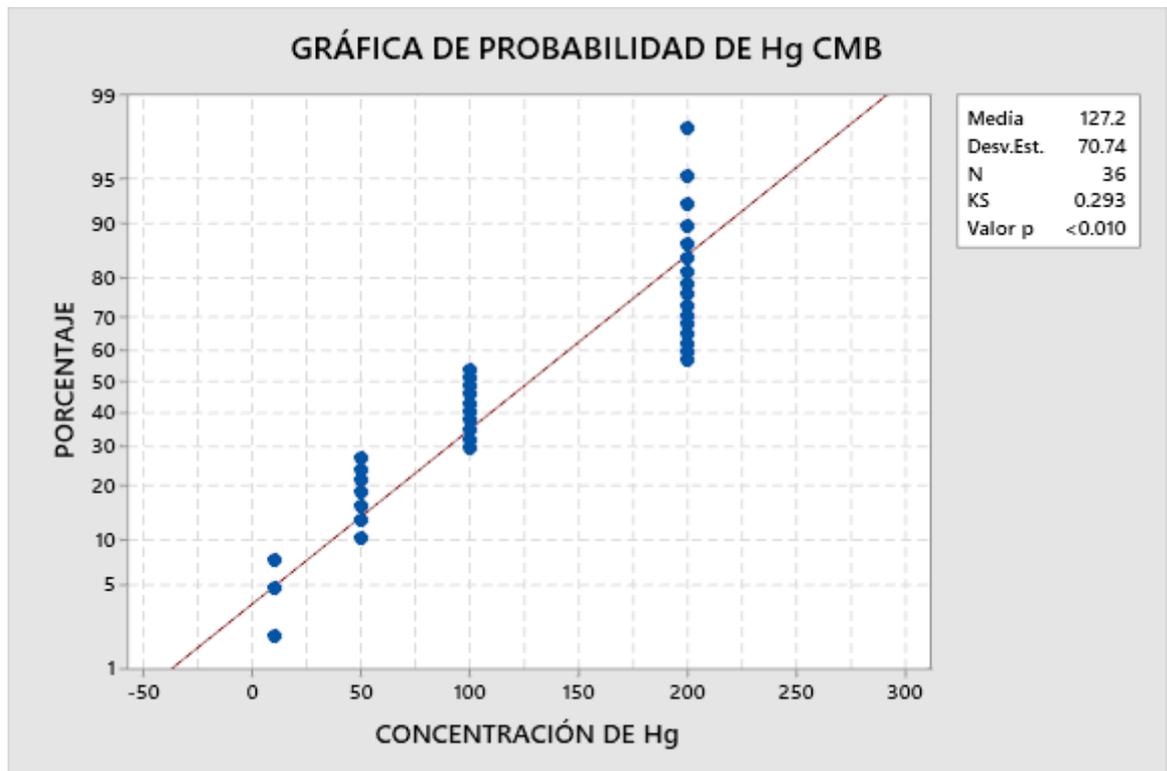
H<sub>0</sub>: La CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Pseudomonas sp* tiene distribución normal

H<sub>a</sub>: La CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta H<sub>0</sub> caso contrario H<sub>a</sub>

Dado que el valor p es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ : La CMI de mercurio (Hg) en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal



**Figura 11.** Gráfica de normalidad de Hg para el cálculo de la CMB de hg en la bacteria *Pseudomonas sp*.

De la figura 11 se observa que el gráfico de probabilidad teórica de color rojo y los puntos de color azul la CMB de mercurio en las bacterias *Pseudomonas sp*, donde se examina que no hay una normalidad, pero se procedió a realizar la prueba de hipótesis correspondiente.

**Cuya hipótesis estadística es:**

$H_0$ : La CMB de hg en la bacteria *Pseudomonas sp* tiene distribución normal.

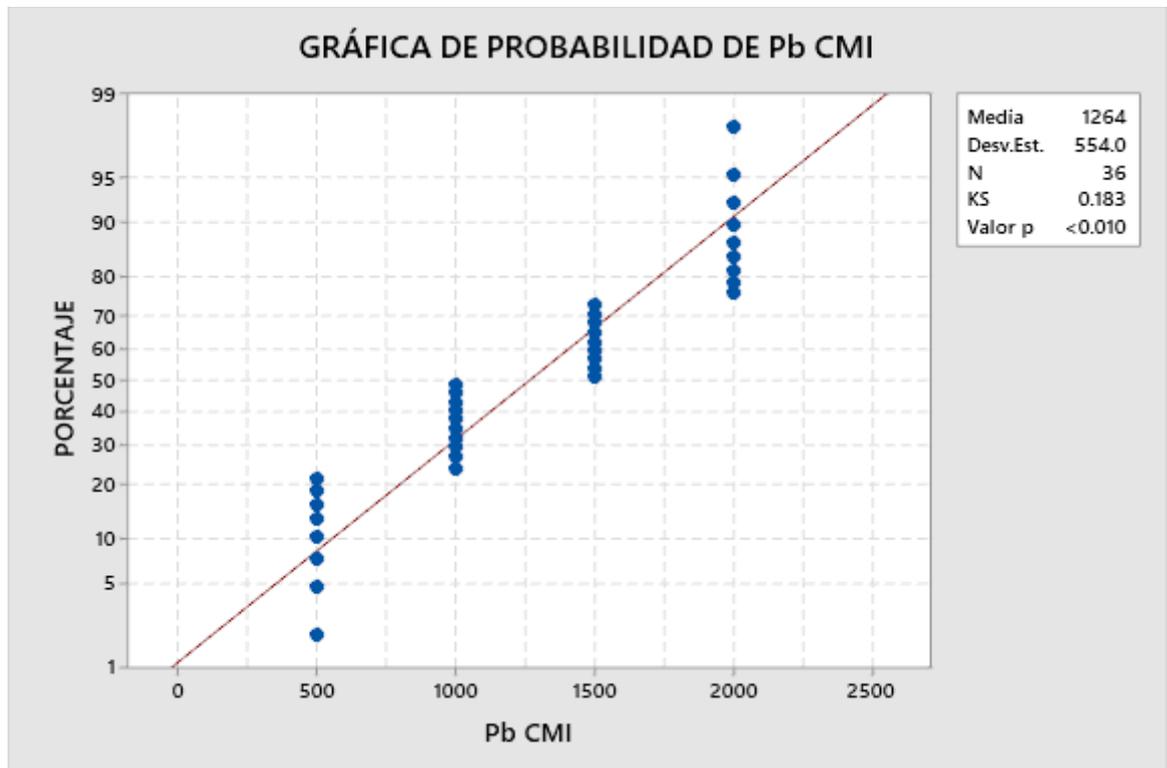
$H_a$ : La CMB de hg en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor  $p$  es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ :

La CMB de hg en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal.



**Figura 12.** Gráfica de normalidad de la CMI de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp*.

De la figura 12 se observa que el gráfico de probabilidad teórica de color rojo y los puntos de CMI de plomo (Pb) en las bacterias *Pseudomonas sp*, donde se presenta que los datos se alejan a la línea de normalidad teórica.

Se procedió mediante la prueba de Kolmogorov-Smirov

### Hipótesis

$H_0$ : La CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Pseudomonas sp* tiene distribución normal

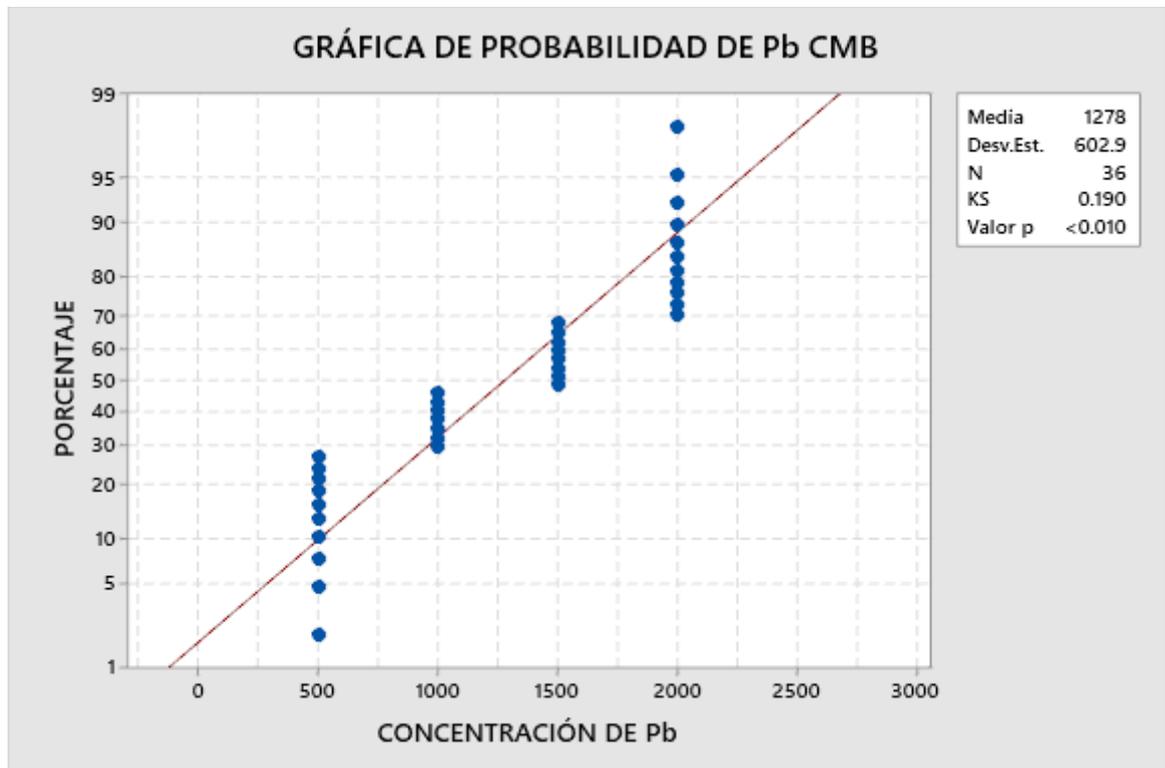
$H_a$ : La CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal

Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor  $p$  es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ :

La CMI de plomo (Pb) en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal.



**Figura 13.** Gráfica de normalidad de CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp*.

De la figura 13 se observa que el gráfico de probabilidad de normalidad teórica de color rojo y los puntos de color azul las CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp*, donde se observa una posible no normalidad.

**Cuya hipótesis estadística es:**

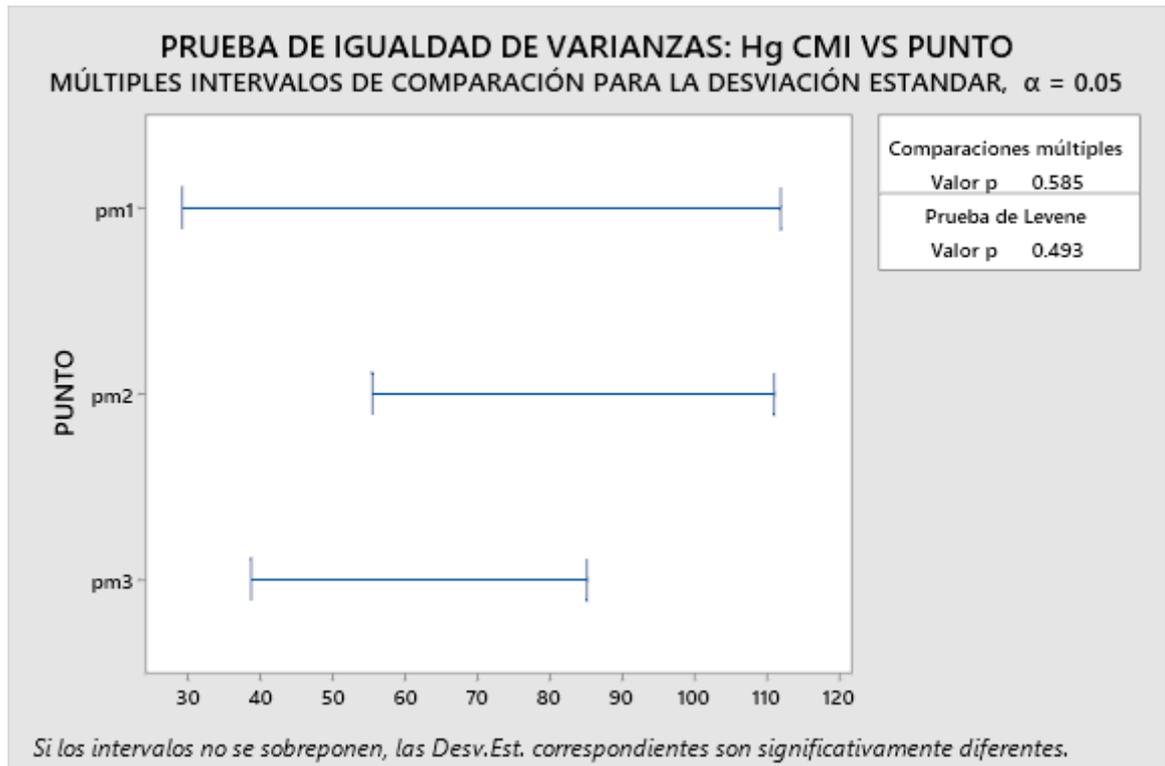
$H_0$ : La CMB de plomo respecto en la bacteria *Pseudomonas sp* tiene distribución normal.

$H_a$ : La CMB de plomo respecto en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal.

Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Si  $p > 0.05$  se acepta  $H_0$  caso contrario  $H_a$

Dado que el valor p es de  $0.01 <$  que el nivel de significancia  $0.05$  se acepta  $H_a$ : La CMB de plomo respecto en la bacteria *Pseudomonas sp* no tiene distribución normal.



**Figura 14.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*.

De la figura 14 se aprecia que las varianzas en los diferentes puntos de muestreo respecto a la CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp* son similares, en sus intervalos en el eje X por ello se sugiere una aparente igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

## Hipótesis

$H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales en CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*

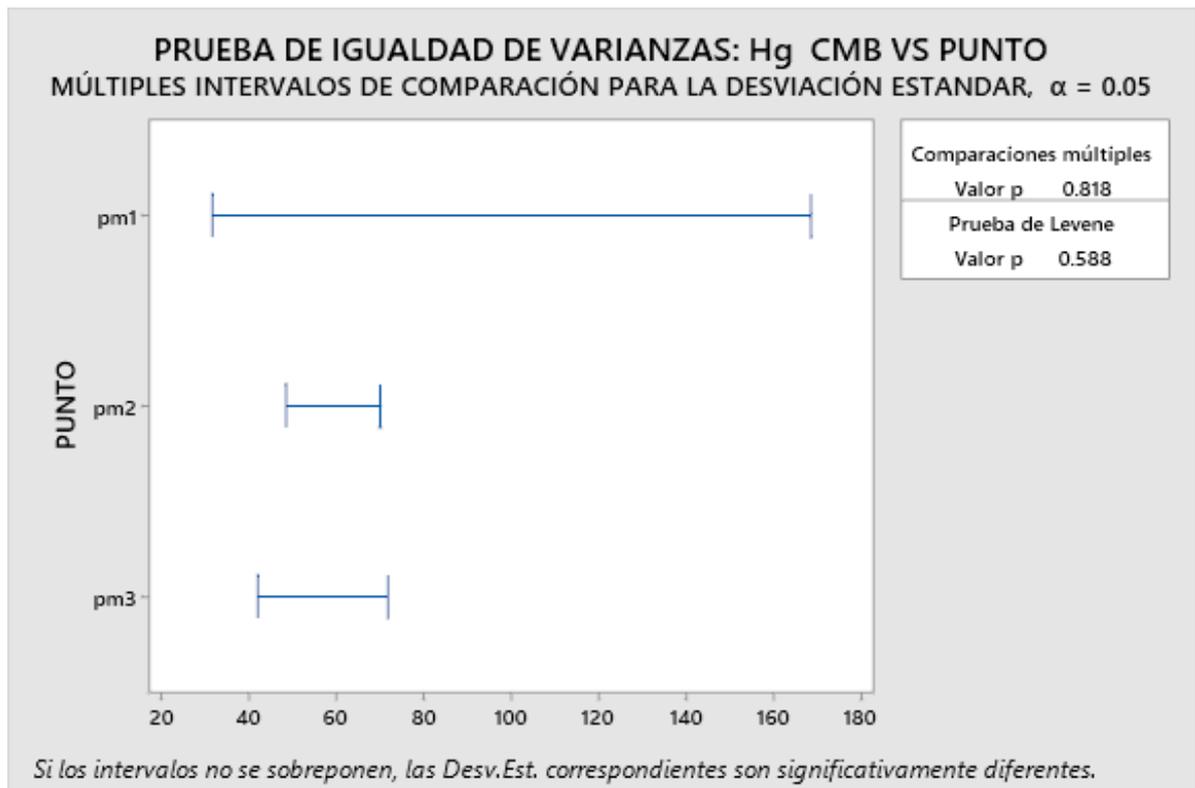
$H_a$ : Las varianzas son diferentes en los tres puntos de muestreo respecto a la CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 8.** Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*.

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.585
Levene	0.72	0.493

De la tabla 8 y figura 14 se tiene un nivel de valor p de  $0.493 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar  $H_0$ : Todas las varianzas de los puntos de muestreo son iguales en CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*.



**Figura 15.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para la CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

De la figura 15 se aprecia que las varianzas de los tres puntos de muestreo respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*, los tres puntos de muestreo coinciden en sus intervalos en el eje X, sin embargo, se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

$H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

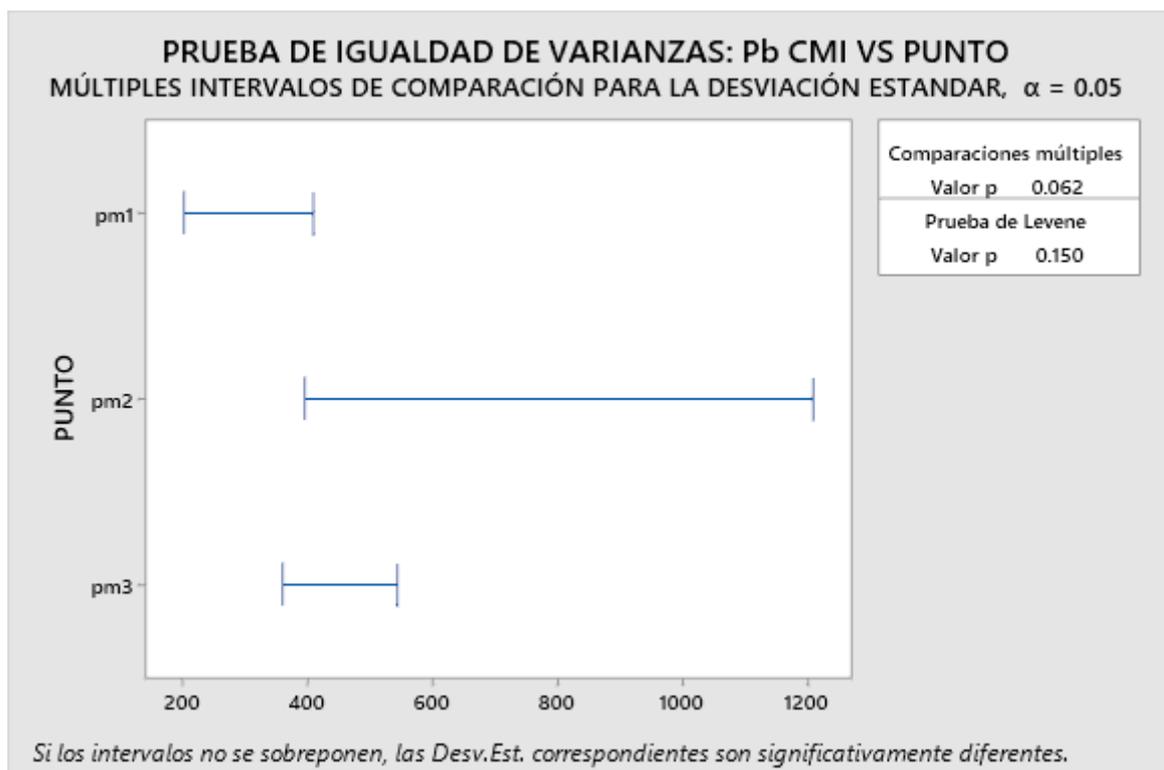
$H_a$ : Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 9.** Resultados del test de Levene para los tres puntos de muestreo para el cálculo de CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.818
Levene	0.54	0.588

De la tabla 9 y figura 15 se tiene un nivel de valor p de  $0.588 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar  $H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*



**Figura 16.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

De la figura 16 se aprecia que las varianzas en los diferentes puntos de muestreo respecto a la CMI en Pb en la bacteria *Pseudomonas sp* son diferentes entre sí, sin embargo, se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los puntos de muestreo son iguales en concentraciones en Pb CMI en la bacteria *Pseudomonas sp*.

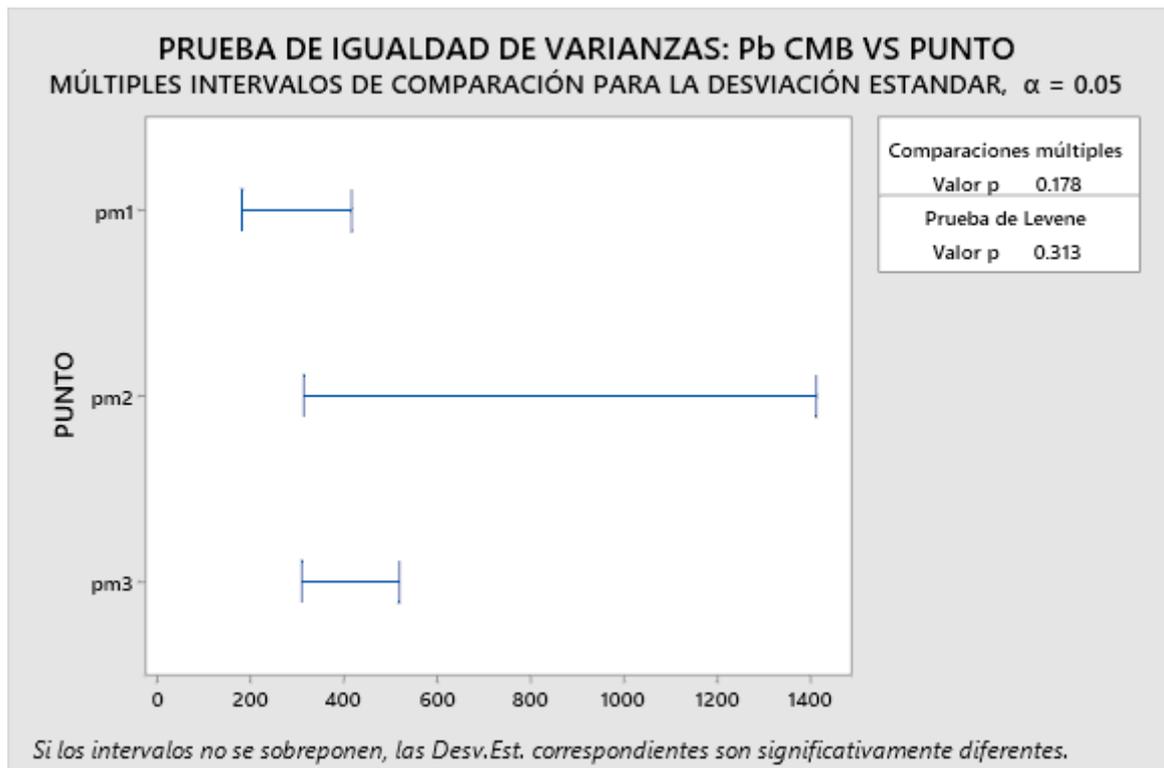
H<sub>a</sub>: Por lo menos alguna varianza es diferente en las concentraciones de Pb CMI en la bacteria *Pseudomonas sp*.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 10.** Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para CMI de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp*.

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.062
Levene	2.01	0.150

De la tabla 10 y figura 16 se tiene un nivel de valor p de  $0.150 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar H<sub>0</sub>: Todas las varianzas de los puntos de muestreo son iguales en concentraciones en Pb CMI en la bacteria *Pseudomonas sp*.



**Figura 17.** Igualdad de varianzas en los tres puntos de muestreo para la CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

De la figura 17 se aprecia que la CMB de pb en la bacteria *Pseudomonas*, en los tres puntos de muestreo son diferentes entre sí ya que en sus intervalos en el eje X se alejan uno de ellos esto puede ocasionar diferencia entre las varianzas, por lo que hacen dudar sobre la igualdad de varianzas sin embargo se procedió con el test de Levene para seguridad de los resultados.

### Hipótesis

$H_0$ : Todas las varianzas de los tres puntos de muestreo son iguales respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

$H_a$ : Las varianzas de los tres puntos de muestreo son diferentes respecto a la CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 11.** Resultados del test de Levene para los puntos de muestreo para la CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones múltiples	—	0.178
Levene	2.82	0.313

De la tabla 11 y figura 17 se tiene un nivel de valor p de  $0.313 >$  que el nivel de significancia 0.05 lo que nos lleva aceptar  $H_0$ : todas las varianzas de los puntos de muestreo son iguales en concentraciones en CMB de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp*

**Tabla 12.** Resumen del cumplimiento de los supuestos bioestadísticos.

Cumplimiento del supuesto bioestadístico	<i>Citrobacter sp</i>				<i>Pseudomonas sp</i>			
	Mercurio		Plomo		Mercurio		Plomo	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Normalidad	no	No	no	no	no	no	no	no
Igualdad de varianzas	si	Si	Si	si	si	si	si	si

De la tabla 12 observa que ninguna variable cumple con los supuestos bioestadísticos de normalidad aun que, si cumpla los supuestos de igualdad de varianzas, no se cumplen los de Normalidad.

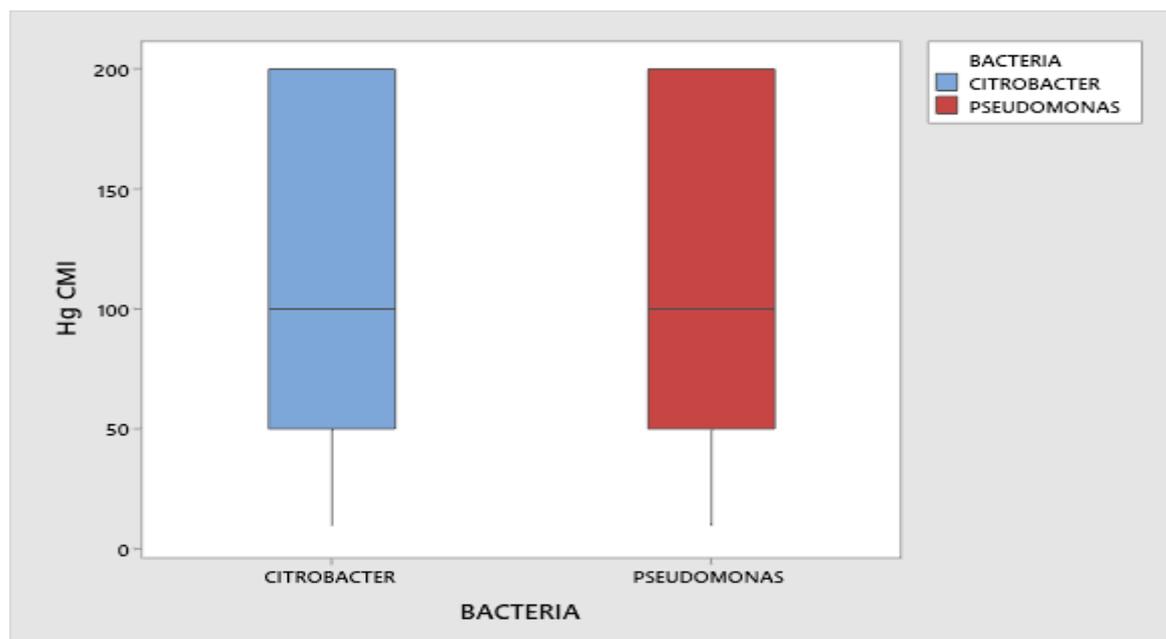
#### 4.3. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) IN VITRO A CONCENTRACIONES DE MERCURIO Y PLOMO EN BACTERIAS *CITROBACTER SP* Y *PSEUDOMONAS SP* AISLADAS DEL AGUA DEL RÍO TOROCOCHA MEDIANTE EL MÉTODO DE MICRODILUCIÓN EN TUBO.

Siendo que las variables en estudio no tienen una distribución normal, pero si tienen igualdad de varianzas de acuerdo a lo propuesto por Berlanga & Rubio (2012) se procedió mediante el test bioestadístico no paramétrico de Kruskal Wallis.

**Tabla 13.** Análisis de la CMI de Hg en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Bacteria	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
<i>Citrobacter sp</i>	36	100 mg/l	113.6 mg/l	36.9	0.15
<i>Pseudomonas sp</i>	36	100 mg/l	112.5 mg/l	36.1	-0.15
General	36	-	-	36.5	-

A partir de la tabla 13 se genera la siguiente figura.



**Figura 18.** Gráfico de cajas de la CMI de Hg en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

De la tabla 13 y figura 18 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es de 113.6 mg/l y de la bacteria *Pseudomonas sp* es de 112.5 mg/l observándose que son muy similares en su capacidad de concentración. Se procedió al análisis Kruskal-Wallis.

### Hipótesis:

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

### Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

**Tabla 14.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) respecto a las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	1	0.02	0.884
<b>Ajustado para empates</b>	<b>1</b>	<b>0.02</b>	<b>0.878</b>

**Nota:** Ajustado a empates se refiere a que todos los puntos de muestreo tienen la misma cantidad de muestras.

Como el valor  $p = 0.878 >$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*. Con un nivel de confianza del 95%.

Resultado que implica que tanto las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp* ambas tienen igual concentración mínima inhibitoria de Hg (mercurio).

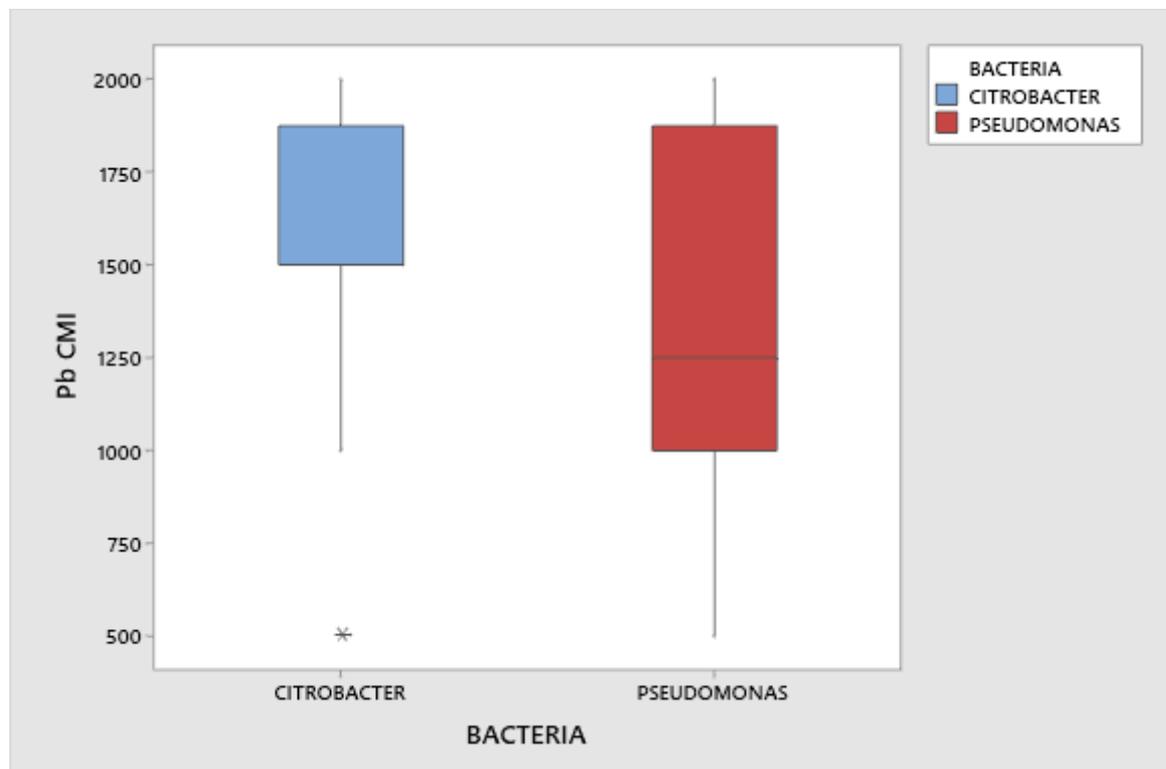
Coincidiendo con lo expuesto por Soto et al. (2010) quienes mediante el método de ensayos de microdilución en tubo se revelan que las bacterias expuestas a metales pesados, son capaces de tolerar sus efectos tóxicos,

Similarmente Panigatti et al. (2012) confirman la aplicación de una bacteria en la remoción de cromo (VI) en efluentes contaminados disminuyéndolos a concentraciones de 200 mg/l, debido a que presenta mecanismos de destoxificación y reducción.

**Tabla 15.** Análisis de la CMI de Pb en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Bacteria	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
<i>Citrobacter sp</i>	36	1500 mg/l	1500 mg/l	40.9	1.78
<i>Pseudomonas sp</i>	36	1250 mg/l	1263.9 mg/l	32.1	-1.78
General	36	-	-	36.5	-

De la tabla 15 se genera la siguiente figura.



**Figura 19.** Gráfico de cajas de la CMI de Pb en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

De la tabla 15 y figura 19 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es de 1500 mg/l y de la bacteria *Pseudomonas sp* es de 1263.9 mg/l observándose que *Citrobacter sp* tiene mayor concentración que *Pseudomonas sp* en su capacidad de concentración de plomo. Se procedió al análisis Kruskal-Wallis.

### Hipótesis:

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de plomo (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

### Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

**Tabla 16.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	1	3.17	0.075
<b>Ajustado para empates</b>	<b>1</b>	<b>3.48</b>	<b>0.062</b>

**Nota:** Ajustado a empates se refiere a que todos los puntos de muestreo tienen la misma cantidad de muestras.

Como el valor  $p = 0.062 >$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*. Ambas bacterias presentan concentraciones de CMI de plomo siendo estadísticamente iguales.

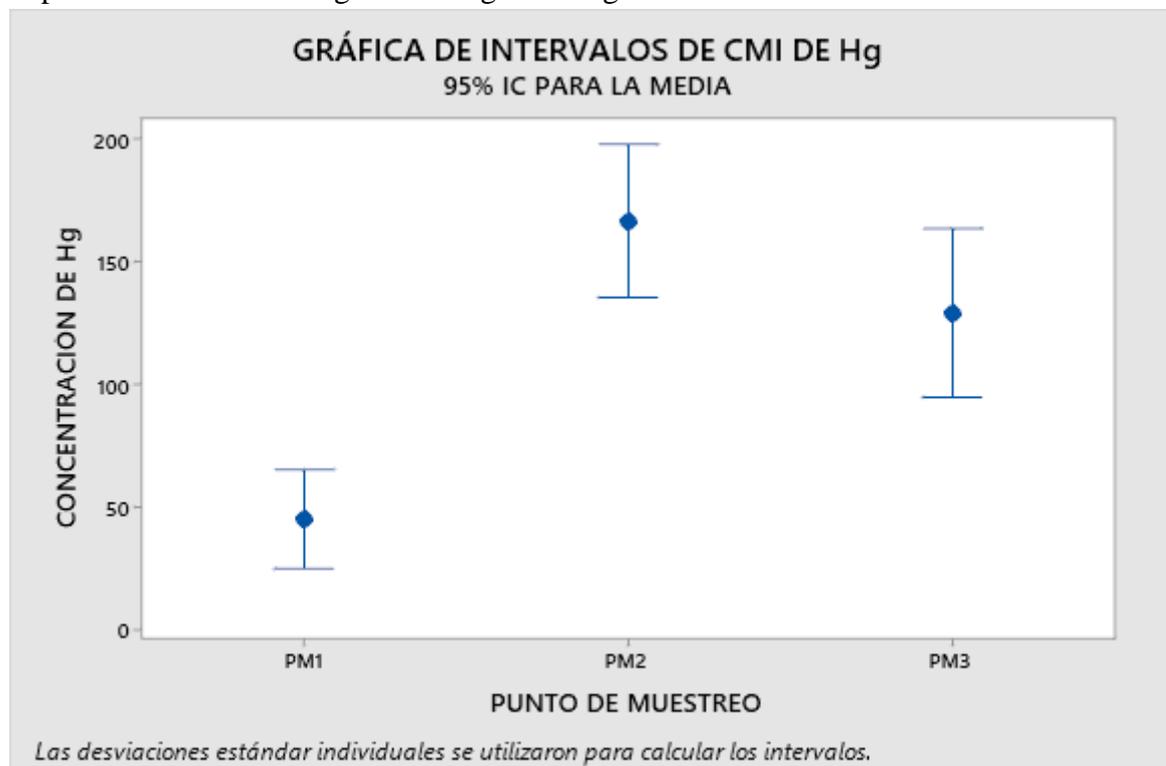
Resultado que es apoyado por Martínez et al. (2010) quien a mediante el método de Kirby Bauer después de analizar consiguieron aislar bacterias tolerantes a metales pesados en el río Almandares (Cuba) de plomo y cromo a concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5 mm, entre los géneros bacterianos reportados se mencionan a la bacteria *Pseudomonas* sp coincidiendo con los resultados en este trabajo de investigación.

### Análisis de la CMI de Hg en la bacteria *Citrobacter* sp en los tres puntos de muestreo

**Tabla 17.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en *Citrobacter* sp.

Punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	50 mg/l	45.00 mg/l	7.8	-4.3
pm2	12	200 mg/l	166.7 mg/l	26.3	3.15
pm3	12	100 mg/l	129.2 mg/l	21.3	1.14
General	36	-	-	18.5	-

A partir de la tabla 17 se genera la siguiente figura



**Figura 20.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en *Citrobacter* sp.

De la tabla 17 y figura 20 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp*, en el primer punto de muestreo es de 45 mg/l, en el segundo punto de muestreo es de 166.7 mg/l y en el tercer punto de muestreo pm3 120.2 mg/l observándose una aparente diferencia de concentraciones en los tres puntos de muestreo en la bacteria *Citrobacter sp*, se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual en los tres puntos de muestreo

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$**

**Tabla 18.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) respecto a la bacteria *Citrobacter sp*.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	19.8	0.000
<b>Ajustado para empates</b>	<b>2</b>	<b>21.81</b>	<b>0.000</b>

**Nota:** Ajustado a empates se refiere a que todos los puntos de muestreo tienen la misma cantidad de muestras

Como el valor  $p = 0.000 <$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

Existe un punto de muestreo que tiene una mayor Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* para ello se determina mediante las comparaciones múltiples de Games-Howels.

### Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 19.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en *Citrobacter sp*.

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-121,67*	16.915	0.000
	pm3	-84,17*	18.131	0.001
pm2	pm1	121,67*	16.915	0.000
	pm3	37.5	21.134	0.202
pm3	pm1	84,17*	18.131	0.001
	pm2	-37.5	21.134	0.202

**Nota:** si el valor Sig. Es mayor que 0.05 los puntos de muestreo son estadísticamente iguales.

Se observa en la tabla 19 según el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de hg (mercurio) en *Citrobacter sp*:

- La CMI del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la CMI de mercurio del punto de muestreo 2 respecto a la bacteria *Citrobacter sp* (0.000), también la CMI el punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto al punto de muestreo 3 (0.001).
- La CMI del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son iguales (0.202)

En base a estos resultados presentados de la CMI de mercurio (hg) en la bacteria *Citrobacter sp* nos lleva a inducir que los puntos de muestreo 2 y 3 son estadísticamente



iguales y el punto de muestreo 1 es diferente a estos, lo que implica que en los puntos de muestreo 2 y 3 tiene una mayor Concentración Mínima Inhibitoria de mercurio (hg) en la bacteria *Citrobacter sp* que en el punto de muestreo 1.

Resultados que apoyan lo expuesto por Navarrete (2017) en Tungurahua (Ecuador) aisló a los géneros bacterianos *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Moraxella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus* y *Kurthia*, de los cuales 3 mostraron resistencia a 700 ppm de mercurio, de 5 a 2000 ppm de plomo y un clon 900 ppm de cromo.

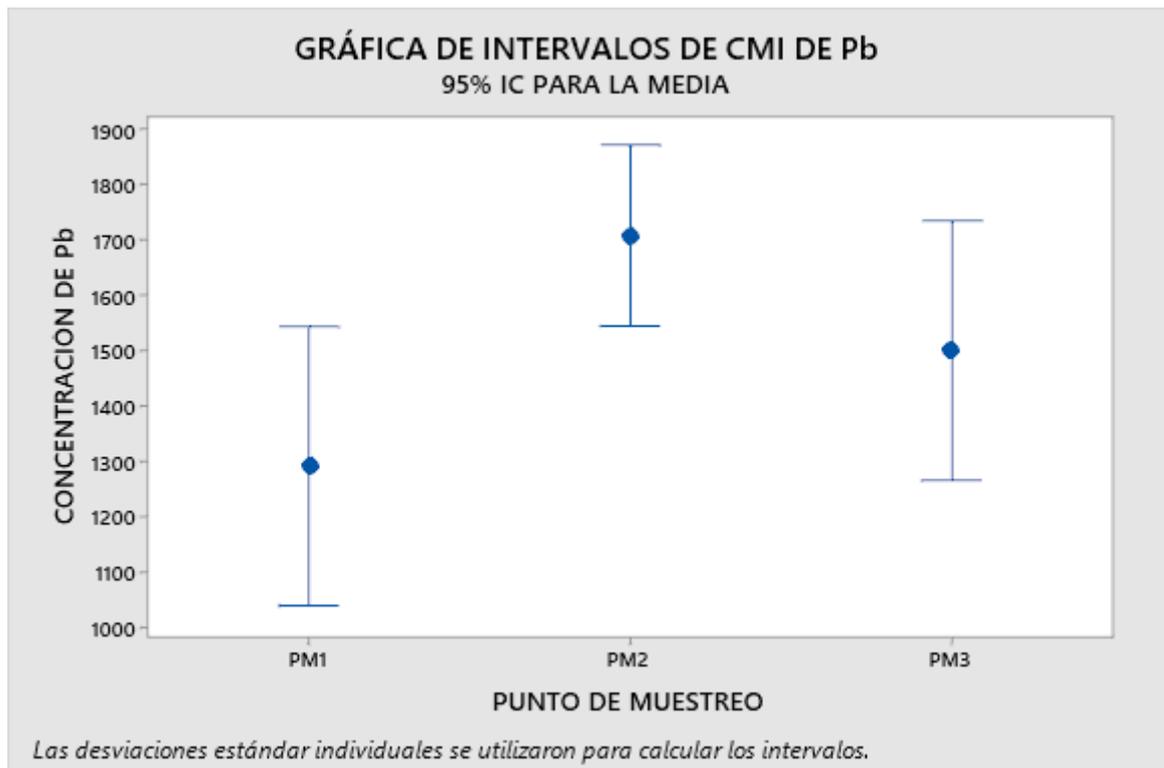
También se cuenta con el estudio de Gutiérrez et al. (2017), quien reportó que *Pseudomonas aeruginosa* mostró tolerancia a  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Ba^{+2}$  y  $Se^{+4}$ , para  $Cu^{+2}$  la concentración mínima inhibitoria (CMI) más alta se registró a 3 mM en el 82.6% de bacterias; para  $Zn^{+2}$ , la CMI más elevada se determinó a 6 mM en el 47.8% de bacterias; para el  $Ba^{+2}$ , la CMI mayor se obtuvo a 4 mM en el 21.7% y para Pb la CMI se calculó en 2.5% en el 100% de las bacterias.

### CMI de Pb en la bacteria *Citrobacter sp*

**Tabla 20.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en *Citrobacter sp*

punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	1500 mg/l	1292 mg/l	13.4	-2.05
pm2	12	1500 mg/l	1708.3mg/l	23.8	2.15
pm3	12	1500 mg/l	1500 mg/l	18.3	-0.10
General	36	-	-	18.5	-

A partir de la tabla 20 se resume en la siguiente figura



**Figura 21.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en *Citrobacter* sp.

De la tabla 20 y figura 21 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter* sp, el punto de muestreo 1 es de 1292 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 1708.3 mg/l y en el tercer punto de muestreo pm3 1500 mg/l observándose gráficamente que el punto de muestreo 2 sugiere mayor promedio, sin embargo, para eludir la incertidumbre se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

**Hipótesis:**

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter* sp es igual en los tres puntos de muestreo

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter* sp es diferente en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 21.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a la bacteria *Citrobacter sp.*

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	5.88	0.053
Ajustado para empates	2	7.07	0.029

**Nota:** Se utiliza el valor p ajustado para empate al tener la misma cantidad de observaciones en los tres puntos de muestreo (de 12 muestras).

De acuerdo al valor  $p = 0.029 < \alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

Se presenta según la información un punto de muestreo con mayor Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter* para ello se determina mediante las comparaciones múltiples de Games-Howels.

### Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 22.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en *Citrobacter sp.*

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-416,6667*	136.4688147	0.017246017
	pm3	- 208.3333333	156.4077487	0.393135004
pm2	pm1	416,6667*	136.4688147	0.017246017
	pm3	208.3333333	129.9524	0.267831258
pm3	pm1	208.3333333	156.4077487	0.393135004
	pm2	- 208.3333333	129.9524	0.267831258

**Nota:** si el valor Sig. Es mayor que 0.05 los puntos de muestreo son estadísticamente iguales.



Se observa en la tabla 22 según el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en *Citrobacter sp*:

- LA CMI del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la CMI del punto de muestreo 2 (0.017), la CMI de plomo del punto de muestreo 1 es estadísticamente igual a la CMI de plomo del punto de muestreo 3 (0.393) respecto a la bacteria *Citrobacter sp*.
- LA CMI de plomo del punto de muestreo 2 es igual a la CMI de plomo del punto de muestreo 3 (0.267)

Según los resultados exhibidos de la CMI de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* estos resultados nos llevan a inducir que el punto de muestreo 2 posee una mayor CMI de plomo que el punto de muestreo 1, a su vez la CMI de plomo del punto de muestreo 2 es igual al punto de muestreo 3 respecto a la bacteria *Citrobacter sp*. Resultando que la CMI de plomo es mayor en el punto de muestreo 2 y 3, siendo estos iguales.

Resultados que son avalados por Muñoz et al. (2012) quienes aislaron *Klebsiella sp* quien retuvo en 24 horas 90.2 mg/g de plomo y 19.3 mg/g de zinc, mediante la formación de biopelículas sobre los soportes sólidos, que poseen gran interés para su aplicación en biofiltros de metales pesados.

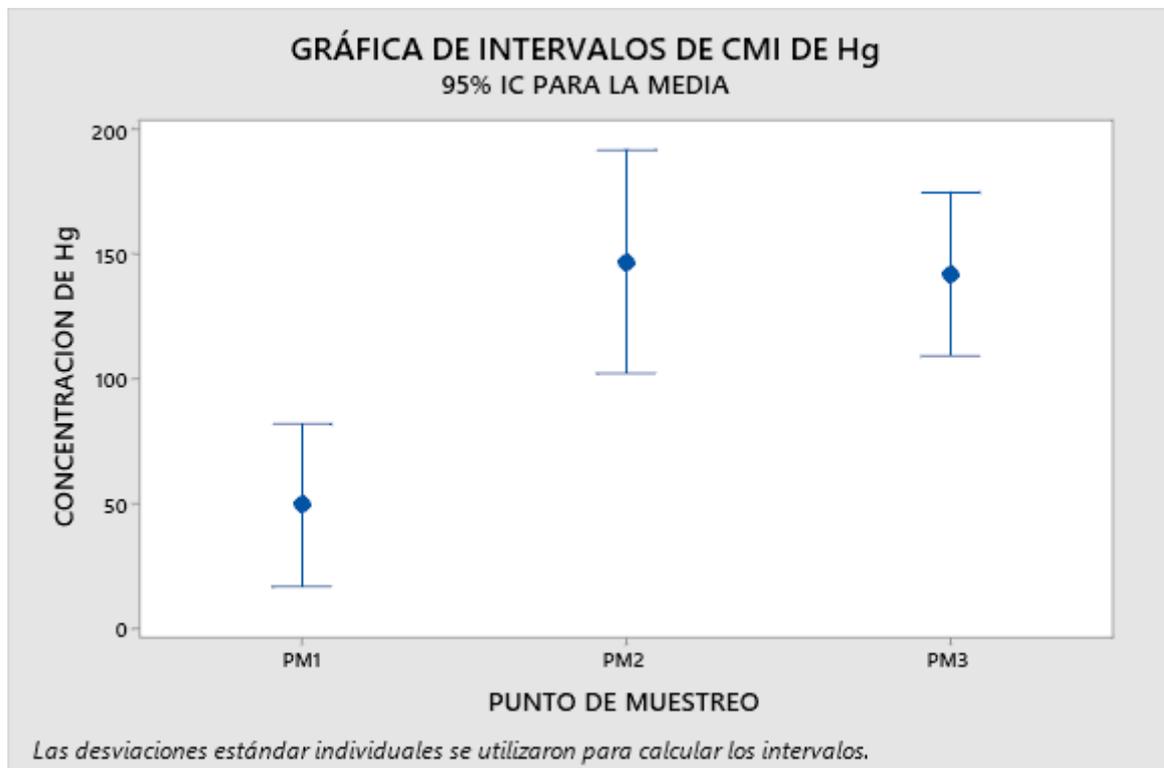
Así también por Ramírez & Benítez (2013) obtuvieron la tolerancia y reducción de cromo (VI) por *Bacillus cereus B1* quienes fueron aislados desde aguas residuales de una curtiembre, llegando a tolerar hasta 8000 ppm, removiendo el 100% de contaminante al cabo de 96 horas a partir de soluciones de cromo de 10, 30 y 50 ppm de Cr+6 en medio Luria Betani.

## CMI de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp*

**Tabla 23.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en *Pseudomonas sp*.

Punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	50 mg/l	49.2 mg/l	9.0	-3.81
pm2	12	200 mg/l	146.7 mg/l	23.2	1.88
pm3	12	100 mg/l	141.7 mg/l	23.3	1.93
General	36	-	-	18.5	-

A partir de la tabla 23 se resume en la siguiente figura



**Figura 22.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Hg en *Pseudomonas sp*.

De la tabla 23 y figura 22 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas sp*, en el primer punto de muestreo es de 49.2 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 146.7 mg/l y en el tercer punto de muestreo 141.7mg/l observándose gráficamente que el segundo punto de



muestreo sugiere una mayor CMI, pero casi igual al punto de muestreo 3 sin embargo, se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

**Hipótesis:**

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas sp* es igual en los tres puntos de muestreo

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 24.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de hg (mercurio) respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	14.51	0.001
Ajustado para empates	2	15.79	0.000

**Nota:** Se utiliza el valor p ajustado para empate al tener la misma cantidad de observaciones en los tres puntos de muestreo (de 12 muestras).

De acuerdo a la tabla 20 el valor  $p = 0.000 <$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

## Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 25.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración

Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en *Pseudomonas* sp.

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-97,5000*	25.12971	0.003
	pm3	-92,5000*	20.97226	0.001
pm2	pm1	97,5000*	25.12971	0.003
	pm3	5.0000	25.17113	0.979
pm3	pm1	92,5000*	20.97226	0.001
	pm2	-5.0000	25.17113	0.979

**Nota:** si el valor Sig. Es mayor que 0.05 los puntos de muestreo son estadísticamente iguales.

Se observa en la tabla 25 según el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en *Pseudomonas* sp:

- La CMI de mercurio del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la CMI de mercurio del punto de muestreo 2 (0.003), la CMI de mercurio del punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto a la CMI de mercurio del punto de muestreo 3 (0.001) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.
- La CMI de mercurio del punto de muestreo 2 y la CMI de mercurio del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (0.979) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

Según los resultados exhibidos de la CMI de hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas* sp nos induce la CMI de mercurio del punto de muestreo 2 y 3 son los que

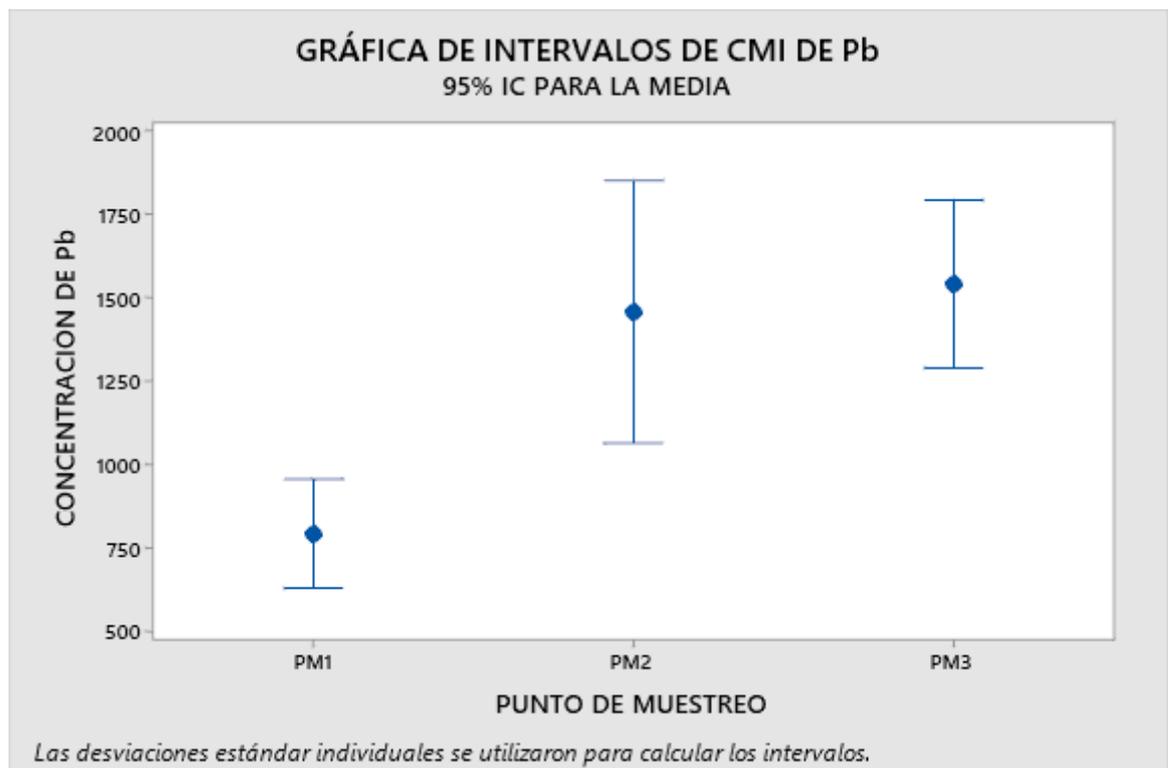
mayor concentración tienen siendo estos estadísticamente iguales y el punto de muestreo 1 tiene menor CMI de Hg (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas* sp.

### CMI de Pb en la bacteria *Pseudomonas* sp

**Tabla 26.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en *Pseudomonas* sp.

punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	1000 mg/l	791.7 mg/l	9.8	-3.52
pm2	12	1500 mg/l	1458 mg/l	22.1	1.46
pm3	12	1500 mg/l	1542 mg/l	23.6	2.06
General	36	-	-	18.5	-

A partir de la tabla 26 se genera la siguiente figura



**Figura 23.** Promedios de los puntos de muestreo de CMI de Pb en *Pseudomonas* sp.

De la tabla 26 y figura 2 se observa que respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp, en el primer punto de muestreo es de 791.7 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 1458 mg/l y en el tercer punto de muestreo 1542 mg/l observándose gráficamente que la CMI de plomo del punto de muestreo 3 presenta mayor promedio que le punto de muestreo 1, pero casi igual al del punto de muestreo 2, y el promedio del punto de muestreo 1 pm1 es menor a ambos, sin embargo para salir de dudas se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

### Hipótesis:

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp es igual en los tres puntos de muestreo

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp es diferente en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 27.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	12.54	0.002
Ajustado para empates	2	13.38	0.001

**Nota:** Se utiliza el valor p ajustado para empate al tener la misma cantidad de observaciones en los tres puntos de muestreo (de 12 muestras).

De acuerdo a la tabla 23 el valor  $p = 0.001 <$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp es diferente en los tres puntos de muestreo.

## Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 28.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración

Mínima Inhibitoria de pb (plomo) en *Pseudomonas* sp.

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-666,6667*	193.81210	0.010 *
	pm3	-750,0000*	136.46881	0.000 **
pm2	pm1	666,6667*	193.81210	0.01 *
	pm3	-83.3333	212.45915	0.919
pm3	pm1	750,0000*	136.46881	0.000 **
	pm2	83.3333	212.45915	0.919

**Nota:** si el valor Sig. Es mayor que 0.05 los puntos de muestreo son estadísticamente iguales.

Se observa en la tabla 24 el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Inhibitoria de pb (plomo) en *Pseudomonas* sp:

- La CMI de plomo del punto de muestreo 1 pm1 es estadísticamente diferente a la del punto de muestreo 2 pm2 (0.010), la CMI del punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto al del punto de muestreo 3 (0.000) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.
- La CMI de plomo del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (0.919) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

Según los resultados exhibidos de la CMI de pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp nos induce que la CMI de plomo en los puntos 2 y 3 son los que mayor Concentración Mínima Inhibitoria tienen siendo estos estadísticamente iguales y el punto de muestreo 1 tiene menor CMI de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas* sp.

Resultados que son coinciden a los presentados por Gómez et al. (2002) quien mediante el método de la concentración mínima inhibitoria determinaron que el 100% de bacterias aisladas fueron resistentes a níquel en 60 y 220 mmol/l y cobalto en 10 a 200

mmol/l, y poseen una tendencia a ser utilizadas en Biotecnología Minera, entre las bacterias se tienen a *Escherichia sp*, *Enterobacter liquefaciens*, *Serratia sp* y *Citrobacter amalonaticu*, a pesar que este autor desarrollo su trabajo en otro metal, coincide con los resultados satisfactorios en *Citrobacterk*

Igualmente, Moraga et al. (2003) en la bahía de Iquique encontraron 104 UFC/ml de carga bacteriana, la mayoría bacilos Gram negativos, mediante la concentración mínima inhibitoria, de 43 cepas el 27% crecieron en un medio suplementado con cobre, *Pseudomonas maltophilia* y *Alcaligenes sp* en su totalidad fueron resistentes a plomo y arsénico.

Afirmado por González & Vargas (2016) que reportan que las bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Pantoea* logran contrarrestar el efecto tóxico de los metales pesados debido a los genes de resistencia a Cd y Pb que poseen.

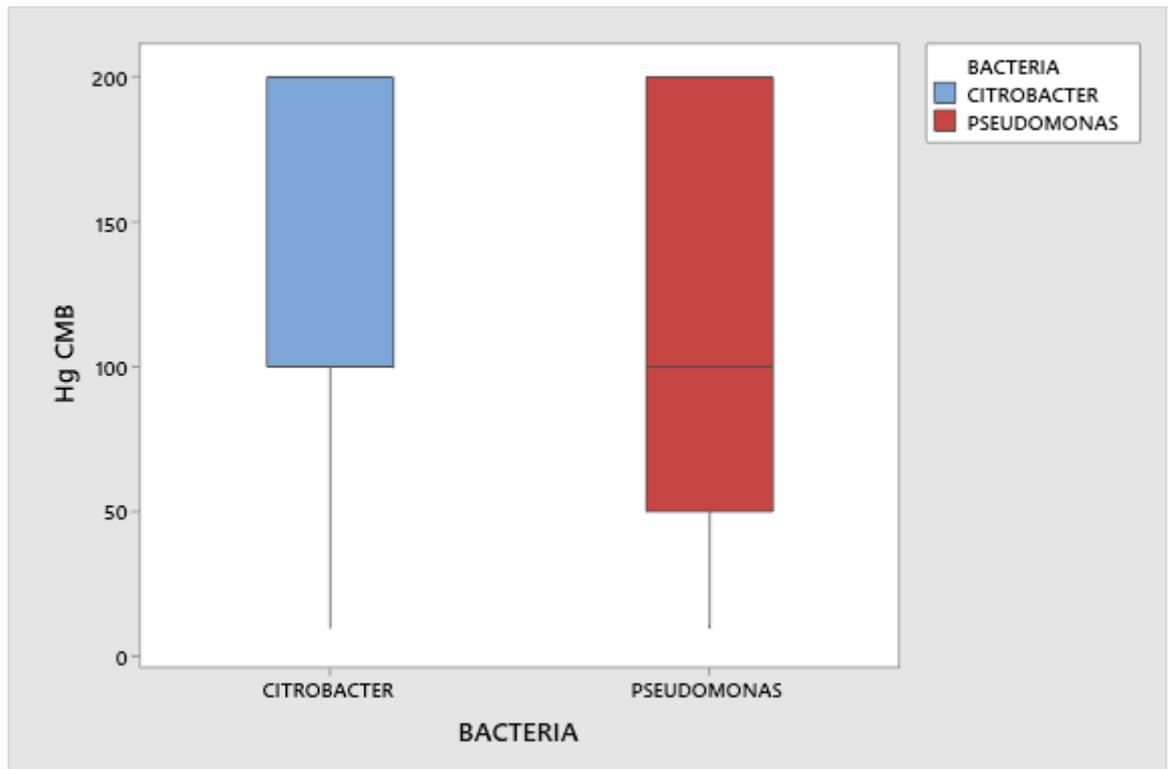
Estos resultados reafirman lo expuesto de modo que se garantiza lo expuesto.

#### **4.4. CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) IN VITRO DE MERCURIO Y PLOMO EN BACTERIAS *CITROBACTER SP* Y *PSEUDOMONAS SP* AISLADAS DEL AGUA DEL RÍO TOROCOCHA MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCOS DE PAPEL.**

**Tabla 29.** Análisis de la CMB de Hg en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Bacteria	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
<i>Citrobacter sp</i>	36	100 mg/l	124.2 mg/l	36.3	-0.1
<i>Pseudomona sp</i>	36	100 mg/l	127.2 mg/l	36.7	0.1
General	36	-	-	36.5	-

De la tabla 29 se resume la siguiente figura



**Figura 24.** Gráfico de cajas de la CMB de Hg en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

De la tabla 29 y figura 4 se observa que respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es de 124.2 mg/l y de la bacteria *Pseudomonas sp* es de 127.2 mg/l presentándose que tienen casi igual capacidad de concentración. Se procedió al análisis Kruskal-Wallis.

### Hipótesis:

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$**

**Tabla 30.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración MínimaBactericida de Hg (mercurio) respecto a las bacterias *Citrobacter* sp y*Pseudomonas* sp.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	1	0.01	0.924
Ajustado para empates	1	0.01	0.919

**Nota:** Ajustado a empates se refiere a que todos los puntos de muestreo tienen la misma cantidad de muestras.

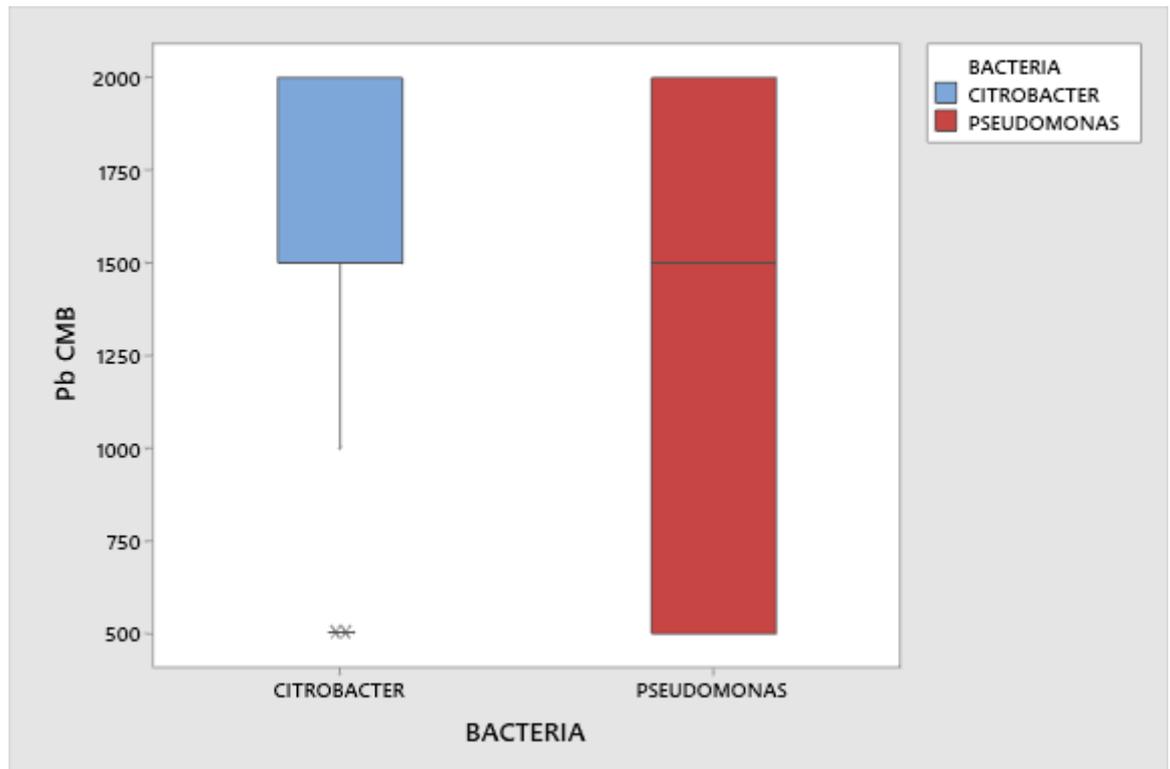
Como el valor  $p = 0.919 >$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta  $H_0$ : La Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter* sp es igual que en la bacteria *Pseudomonas* sp.

Resultados que concuerdan con Obando (2021) este trabajo de investigación se realizó con 385 muestras de agua del fundo privado. Se procesó los resultados por medio del análisis de varianza inter grupos con un valor p de 0.01 y un análisis post hoc de comparación de medias (Tuckey). Dentro de los principales resultados se determinó el efecto bactericida con mayor sensibilidad a una concentración de extracto bioactivo de 1%, 0.5% y 0.25% para cepas de las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. Aunque esta investigación se utilizó otras bacterias los resultados satisfactorios apoyan lo expuesto.

**Tabla 31.** Análisis de la CMB de Pb en las bacterias *Citrobacter* sp y *Pseudomonas* sp.

Bacteria	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
Citrobacter	36	1500 mg/l	1583.3 mg/l	41.4	1.99
Pseudomonas	36	1500 mg/l	1278 mg/l	31.6	-1.99
General	36	-	-	36.5	-

A partir de la tabla 31 se genera a continuación la figura



**Figura 25.** Gráfico de cajas de la CMB de Pb en las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

De la tabla 31 y figura 25 se observa que respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es de 1583.3 y de la bacteria *Pseudomonas sp* es de 1278 observándose que *Citrobacter sp* que posee mayor concentración de plomo. Se procedió al análisis Kruskal-Wallis.

### Hipótesis:

H<sub>0</sub>: La Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

H<sub>1</sub>: La Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$**

**Tabla 32.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a la Concentración MínimaBactericida de Pb (plomo) respecto a las bacterias *Citrobacter sp* y *Pseudomonas sp*.

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	1	3.97	0.046
Ajustado para empates	1	4.37	0.037

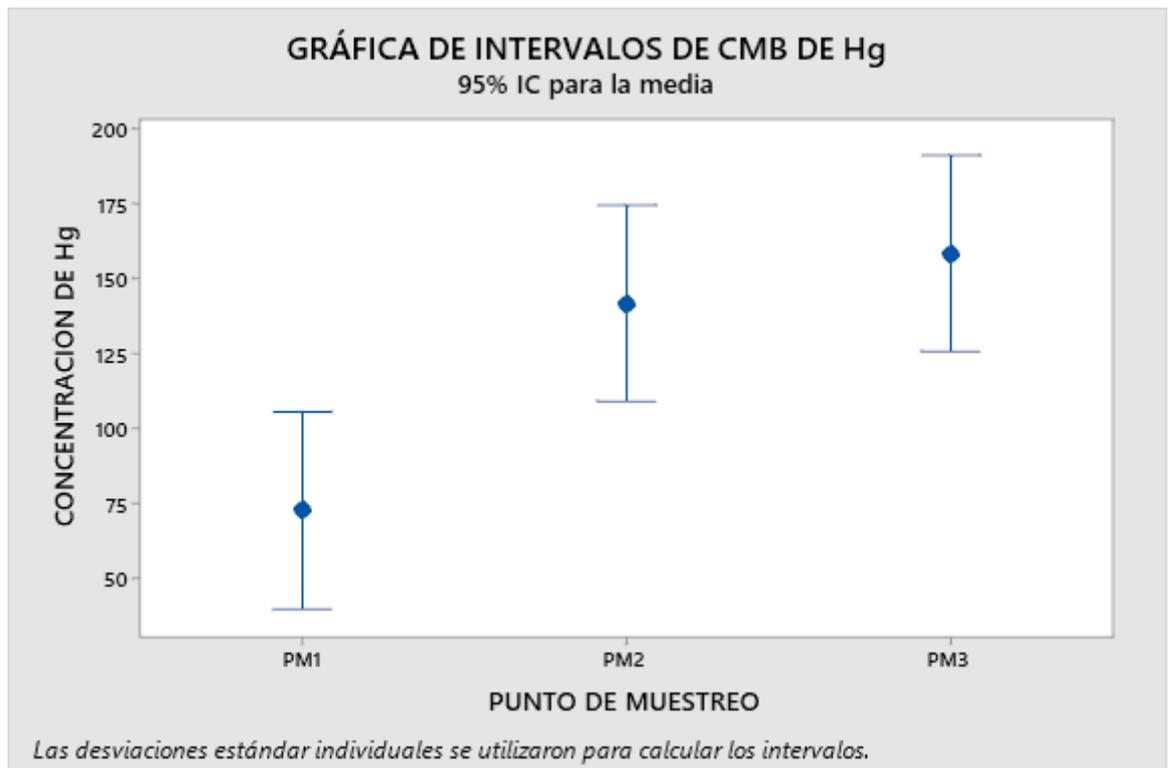
De acuerdo al valor  $p = 0.037 < \alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente que en la bacteria *Pseudomonas sp*.

Concordando con Yanchapanta (2022) quien hizo una valoración estadística bactericida de las nanopartículas in vitro en medios de cultivos sólidos (agar nutritivo), calculando el crecimiento de las bacterias en UFC/ml. Concluyó que los métodos utilizados de plata intervienen como agente bactericida frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella parathypi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* y *Shigella flexnery*.

**Tabla 33.** Promedio de CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* en los puntos de muestreo.

Punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	50 mg/l	72.5 mg/l	10	-3.42
pm2	12	100 mg/l	141.7 mg/l	21.5	1.22
pm3	12	200 mg/l	158.3 mg/l	24	2.2
General	36	-	-	18.5	-

De la tabla 33 se genera la siguiente figura



**Figura 26.** CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* en los puntos de muestreo.

De la tabla 33 y figura 26 se observa que respecto a la CMB de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp*, en el primer punto de muestreo es de 72.5 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 141.7 mg/l y en el tercer punto de muestreo es de 158.3 mg/l donde se puede observar que el punto de muestreo 3 presenta mayor CMB sin embargo se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

### Hipótesis

$H_0$ : La CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* son iguales en los tres puntos de muestreo.

$H_1$ : La CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* son diferentes en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$**

**Tabla 34.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a los promedios de CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp.*

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	12.03	0.002
Ajustado para empates	2	13.94	0.001

**Nota:** Se utiliza el valor p ajustado para empates

De acuerdo al valor  $p = 0.001 < \alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter sp* son diferentes en los tres puntos de muestreo.

### Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 35.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración

Mínima bactericida de Hg en la bacteria *Citrobacter sp.*

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-69,1667*	21.10429848	0.009261271
	pm3	-85,8333*	21.10429848	0.001428996
pm2	pm1	69,1667*	21.10429848	0.009261271
	pm3	- 16.66666667	21.02187413	0.711247459
pm3	pm1	85,8333*	21.10429848	0.001428996
	pm2	16.66666667	21.02187413	0.711247459

Se observa en la tabla 35 el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Hg (Mercurio) en *Citrobacter sp*:

- La CMB de mercurio del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la del punto de muestreo 2 (0.009), la CMB de mercurio del punto de muestreo 1 es

estadísticamente distinto al del punto de muestreo 3 (0.001) respecto a la bacteria *Citrobacter* sp.

- La CMI de mercurio del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (0.711) respecto a la bacteria *Citrobacter* sp.

Estos resultados implican que los puntos de muestreo 2 y 3 respecto a la CMB de mercurio en la bacteria *Citrobacter* sp son estadísticamente iguales y el punto de muestreo 1 es menor a ellos.

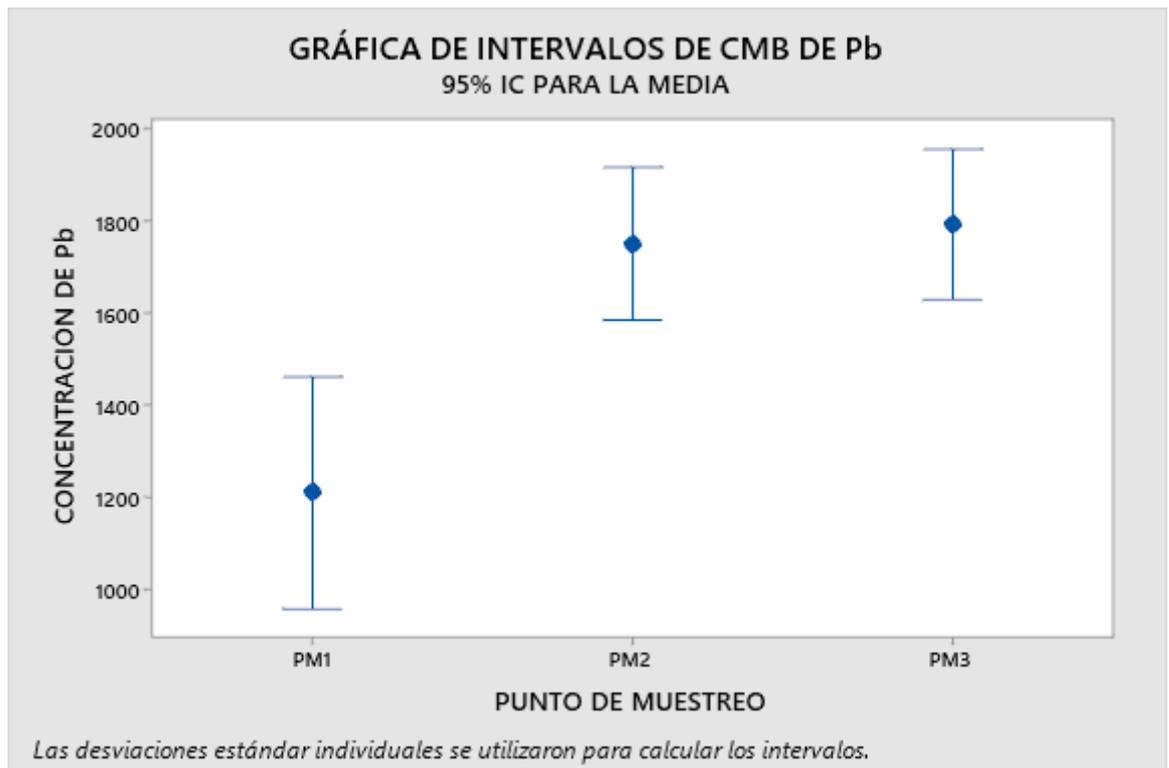
Dado que las cepas resistentes pueden aprovecharse como alternativa en la desintoxicación de ecosistemas dañados por agentes tóxicos, la resistencia bacteriana a los metales pesados, sus procesos y determinantes genéticos han sido objeto de especial atención en las últimas décadas (Moraga, Merino & Mondaca, 2003)

### **CMB de plomo en la bacteria *Citrobacter* sp**

**Tabla 36.** Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter* sp en los puntos de muestreo

punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	1500 mg/l	1208 mg/l	9.7	-3.54
pm2	12	1750 mg/l	1750 mg/l	22.3	1.51
pm3	12	2000 mg/l	1791.7 mg/l	23.5	2.03
General	36	-	-	18.5	-

De la tabla 36 se genera la siguiente figura



**Figura 27.** Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* en los puntos de muestreo.

De la tabla 36 y figura 27 se observa que respecto a la CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp*, en el primer punto de muestreo es de 1208 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 1750 mg/l y en el tercer punto de muestreo es de 1791.7 mg/l donde se puede observar que el punto de muestreo 3 presenta una CMB que supera al del punto de muestreo 2 y al punto de muestreo 3 sin embargo se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

### Hipótesis

$H_0$ : La CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es igual en los tres puntos de muestreo.

$H_1$ : La CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente en los tres puntos de muestreo

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 37.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a los promedios de CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp.*

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	12.62	0.002
Ajustado para empates	2	15.25	0.000

**Nota.** Se utiliza el método ajustado para empates al tener la misma cantidad de muestras en los tres puntos de muestreo.

De acuerdo a la tabla 37 el valor  $p = 0.000 < \alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente en los tres puntos de muestreo

Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 38.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Pb en la bacteria *Citrobacter sp.*

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-541,6667*	137.0458524	0.002342257
	pm3	-583,3333*	136.4688147	0.001152029
pm2	pm1	541,6667*	137.0458524	0.002342257
	pm3	41.66666667	105.8574895	0.918459765
pm3	pm1	583,3333*	136.4688147	0.001152029
	pm2	41.66666667	105.8574895	0.918459765

Se observa en la tabla 38 el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en *Citrobacter sp*:

- La CMB de plomo del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la del punto de muestreo 2 (0.02), la CMB de plomo del punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto al del punto de muestreo 3 (0.001) respecto a la bacteria *Citrobacter sp.*
- La CMB de plomo del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (0.91) respecto a la bacteria *Citrobacter sp.*

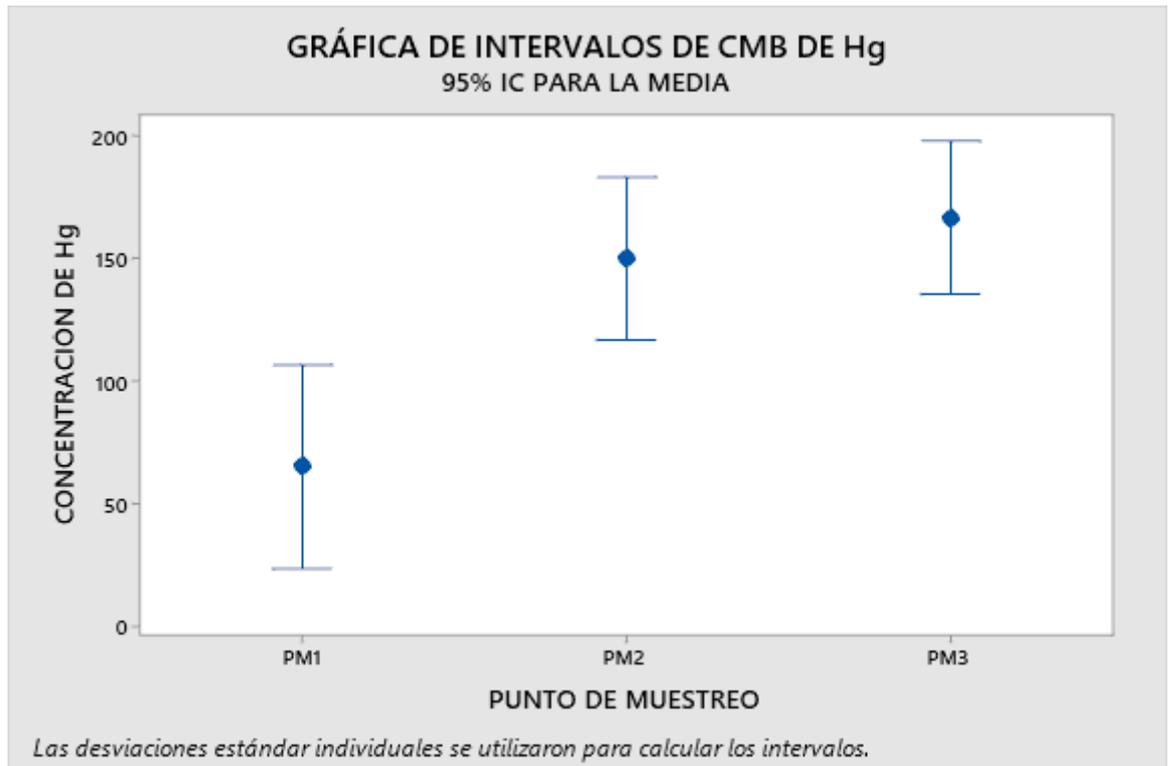
Se observa que el primer punto de muestreo tiene menor CMB de plomo que los puntos de muestreo 2 y 3 son los que mayor CMB de plomo tienen.

### CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp*

**Tabla 39.** Promedio de CMB de mercurio (mercurio) en la bacteria *Pseudomonas sp* en los puntos de muestreo.

punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	50 mg/l	65 mg/l	9.3	-3.69
pm2	12	150 mg/l	150 mg/l	22	1.41
pm3	12	200 mg/l	166.7 mg/l	24.2	2.28
General	36	-	-	18.5	-

La tabla 39 se resume en la siguiente figura



**Figura 28.** Promedio de CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp* en los puntos de muestreo.

De la tabla 39 y figura 28 se observa que respecto a la CMB de mercurio la bacteria *Pseudomonas sp*, el primer punto de muestreo tiene una CMB de mercurio de 65 mg/l, el segundo punto de muestreo de 150 mg/l y en el tercer punto de muestreo es de 166.7 mg/l respecto a la bacteria *Pseudomonas sp* donde se puede observar que el punto de muestreo 3 demuestra mayor CMB, se procedió a contrastar mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: La CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp* en los tres puntos de muestreo son iguales.

H<sub>1</sub>: La CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp* en los tres puntos de muestreo son diferentes.

**Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$** **Tabla 40.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a los promedios de CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	13.88	0.001
Ajustado para empates	2	15.71	0.000

**Nota.** Se utiliza el método ajustado para empates al tener la misma cantidad de muestras en los tres puntos de muestreo

De acuerdo a la tabla 40 el valor  $p = 0.000 < \alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La CMB de mercurio en la bacteria *Pseudomonas sp* en los tres puntos de muestreo son diferentes.

**Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels****Tabla 41.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Hg en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-85,0000*	24.1679728	0.005576884
	pm3	-101,6667*	23.63976277	0.000933784
pm2	pm1	85,0000*	24.1679728	0.005576884
	pm3	-	20.71938535	0.704289604
pm3	pm1	101,6667*	23.63976277	0.000933784
	pm2	16.66666667	20.71938535	0.704289604

Se observa en la tabla 41 el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en *Pseudomonas sp*:

- La MB de mercurio del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la del punto de muestreo 2 (0.005) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp, la CMB de mercurio del punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto al del punto de muestreo 3 (0.000) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.
- La CMB de mercurio del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (0.70) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

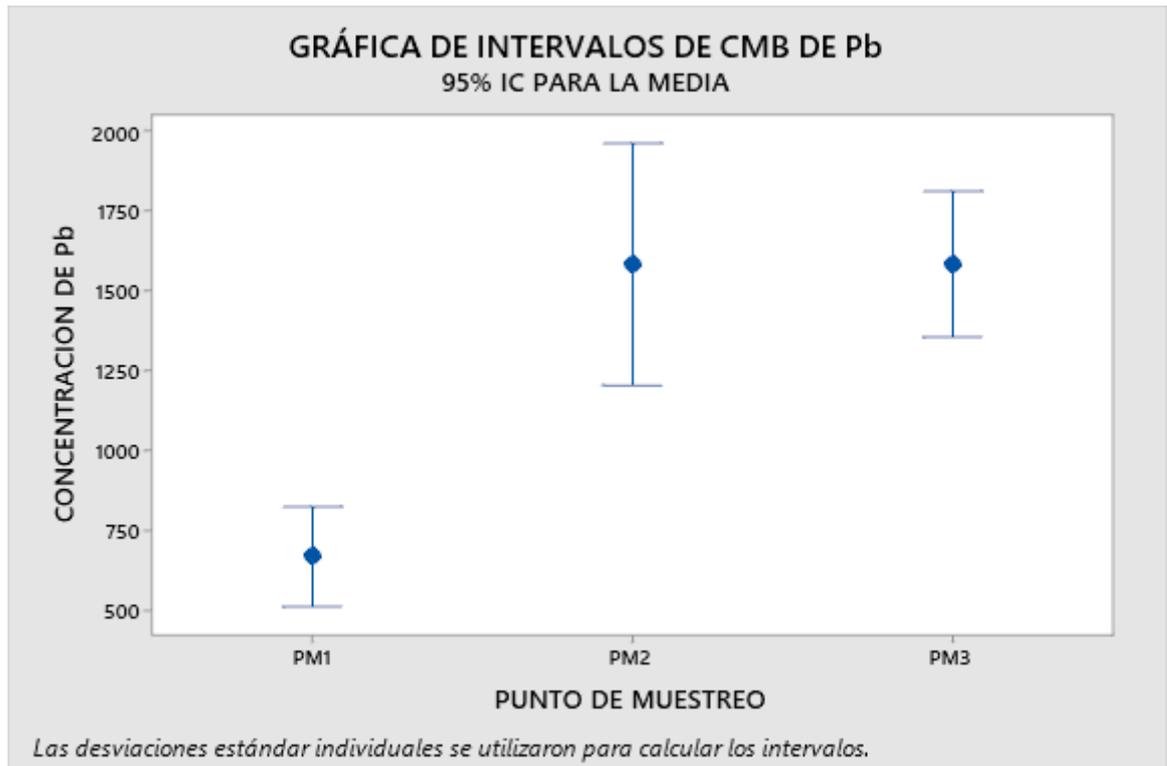
Se observa que el primer punto de muestreo tiene menor CMB de mercurio, y que los puntos de muestreo 2 y 3 son los que mayor CMB de mercurio tienen respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

### **CMB de plomo en la bacteria *pseudomonas* sp**

**Tabla 42.** Promedio de CMB de plomo en la bacteria *Pseudomonas* sp en los puntos de muestreo

Punto	N	Mediana	Promedio	Clasificación de medias	Valor Z
pm1	12	500 mg/l	666.7 mg/l	8.3	-4.09
pm2	12	2000 mg/l	1583 mg/l	23.8	2.11
pm3	12	1500 mg/l	1583 mg/l	23.4	1.98
General	36	-	-	18.5	-

De la tabla 42 se resume en la siguiente figura



**Figura 29.** Promedio de CMB de Pb (plomo) en la bacteria *Pseudomonas sp* en los puntos de muestreo.

De la tabla 42 y figura 29 se observa que respecto a CMB de plomo en la bacteria *Pseudomonas sp*, el promedio del punto de muestreo 1 es de 666.7 mg/l, en el segundo punto de muestreo de 1583 mg/l y en el tercer punto de muestreo es de 1583mg/l donde se puede observar que el promedio del punto de muestreo 3 y el punto de muestreo 2 son casi iguales, siendo el del punto de muestreo 1 menor que ambos. Procediendo con la prueba de Kruswal Wallis.

### Hipótesis

H<sub>0</sub>: La CMB de plomo en la bacteria *pseudomonas sp* es igual en los tres puntos de muestreo.

H<sub>1</sub>: La CMB de plomo en la bacteria *pseudomonas sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

**Nivel de significancia**       $\alpha = 0.05$

**Tabla 43.** Resultados de la prueba Kruskal Wallis respecto a los CMB de plomo en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	16.77	0.000
Ajustado para empates	2	17.98	0.000

**Nota.** Se utiliza el método ajustado para empates al tener la misma cantidad de muestras en los tres puntos de muestreo

De acuerdo a la tabla 43 el valor  $p = 0.000 <$  al nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se acepta  $H_1$ : La CMB de plomo en la bacteria *pseudomonas sp* es diferente en los tres puntos de muestreo.

#### Prosigue las comparaciones múltiples de Games-Howels

**Tabla 44.** Comparaciones múltiples de Games-Howell respecto a la Concentración Mínima bactericida de Pb en la bacteria *Pseudomonas sp.*

Punto de muestreo		Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
pm1	pm2	-916.6667*	186.3389981	0.00055
	pm3	-916.6667*	125.6297269	0.00000
pm2	pm1	916.6667*	186.3389981	0.00055
	pm3	0	201.0075631	1.00000
pm3	pm1	916.6667*	125.6297269	0.00000
	pm2	0	201.0075631	1.00000

Se presenta en la tabla 44 el análisis post-hoc de Games Howell respecto a la Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en *Pseudomonas sp*:

- La CMB de plomo del punto de muestreo 1 es estadísticamente diferente a la del punto de muestreo 2 (0.00055) respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, la CMB de



plomo del punto de muestreo 1 es estadísticamente distinto al del punto de muestreo 3 (0.000) respecto a la bacteria *pseudomonas* sp.

- La CMI de plomo del punto de muestreo 2 y del punto de muestreo 3 son estadísticamente iguales (1) respecto a la bacteria *Pseudomonas* sp.

Se observa que el primer punto de muestreo tiene menor CMB de plomo, y que los puntos de muestreo 2 y 3 son los que mayor CMB de plomo tienen según la bacteria *Pseudomonas* sp. Lo que demuestra variabilidad genética inherente a los puntos de muestreo que es señalada por la variabilidad que existe en la CMB de cada punto de muestreo.

Resultado que concuerda con lo expuesto por Obando (2021) por medio del análisis de varianza inter grupos con un valor p de 0.01 y un análisis post hoc de comparación de medias (Tuckey). Dentro de los principales resultados se determinó el efecto bactericida con mayor sensibilidad a una concentración de extracto bioactivo de 1%, 0.5% y 0.25% para cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.

Igualmente, Yanchapanta (2022) para el análisis estadístico se utilizó un diseño factorial  $3^2$  contando con dos factores de tres niveles, siendo este análisis factorial significativo con valor p = 0.000 concluyendo que las nanopartículas de plata intervienen como agente bactericida frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Edwardsiella tarda* y la bacteria *Shigella flexnery*.



## V. CONCLUSIONES

La Concentración Mínima Inhibitoria de Hg (mercurio) en *Citrobacter sp* es de 113.6 mg/l y *Pseudomonas sp* es de 112.5 mg/l siendo estadísticamente iguales ( $p=0.878$ ) según análisis de Kruskal-Wallis.

La Concentración Mínima Inhibitoria de Pb (plomo) en *Citrobacter sp* es de 1500 mg/l, en *Pseudomonas sp* es de 1250 mg/l, la prueba de Kruskal-Wallis no es significativa ( $p = 0.062$ ) ambas bacterias presentan similares concentraciones de CMI de Pb (plomo).

Concentración Mínima Bactericida de Hg (mercurio) en la bacteria *Citrobacter sp* es de 124.2 mg/l y en *Pseudomonas sp* es 127.2 mg/l siendo que según la comparación de Kruskal Wallis ambas tienen igual concentración estadística ( $p = 0.919$ ).

Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) de *Citrobacter sp* es de 1583.3 mg/l y *Pseudomonas sp* de 1278 mg/l. Mediante el análisis de Kruskal-Wallis la Concentración Mínima Bactericida de Pb (plomo) en la bacteria *Citrobacter sp* es diferente ( $p=0.037$ ) que en la bacteria *Pseudomonas sp*, teniendo *Citrobacter sp* mayor concentración.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se apreció que la bacteria *Citrobacter sp* tiene cualidades que le permite resistir y/o tolerar concentraciones más altas de Pb (plomo) con respecto a la bacteria *Pseudomonas sp*, por lo tanto, se infiere que puede ser una buena opción para el tratamiento de aguas contaminadas con Pb (plomo).



## VI. RECOMENDACIONES

Se sugiere a futuros investigadores tomar en consideración el tamaño de muestra, trabajar con una mayor cantidad de muestras, así como evaluar la evolución en el tiempo de la contaminación del río Torococha para poder tomar las medidas preventivas y correctivas.

Se recomienda realizar estudios actualizados de la calidad biológica, físico-química por zonas de muestreo del agua del río Torococha de la ciudad de Juliaca, así tener una mejor comprensión de los factores que afectan la resistencia bacteriana a metales pesados.

Sería necesario realizar estudios similares con otras especies bacterianas, en distintos ríos con un grado de contaminación y utilizando grupos de control para hallar resultados más confiables.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, R. & Severiche C. (2013). Identificación de bacterias resistentes a di-bromo-mercurio aisladas de sedimentos en playas de Cartagena de Indias, caribe colombiano. *Avances Investigación en Ingeniería*. Vol. 10(2):73-79.
- Aguilar, E. (2017). Calidad bacteriológica del río Torococha y su influencia en las aguas de pozo de los barrios San Isidro y San Jacinto de la ciudad de Juliaca. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano, Puno – Perú. 76 p.  
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10933>.
- Apaza, A. (2015). Remoción de metales plomo (Pb) y zinc (Zn) de las aguas del río Torococha por precipitación alcalina en la ciudad de Juliaca. Tesis de grado de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.
- APHA, AWWA & WEF. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th Edition, American Public Health Association Editorial, Washington, 1427 p.
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172-197.
- Berlanga, V., & Rubio Hurtado, M. J. (2012). Clasificación de pruebas no paramétricas. Cómo aplicarlas en SPSS. REIRE. *Revista d'Innovació i Recerca en Educació*, 2012, vol. 5, num. 2, p. 101-113. Recuperado de <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/45283>



- Camacho, S. (2014). Ensayos microbiológicos. Editorial Síntesis. Madrid – España. 457 p.
- Castro, F. & Marín J. (2018). Comparación de la ecotoxicidad por metales pesados sobre bacterias heterótrofas de dos sitios contrastados del lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. Vol. 14 (1): 9-17. <http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2825>.
- Claudet, C. (2019). Contaminantes del ecosistema del lago Titicaca de la región Puno y la gestión ambiental del Turismo. Tesis de Licenciado en Administración de Negocios Internacionales. Facultad de Ciencias Administrativas y Recursos Humanos. Universidad San Martín de Porras. Lima – Perú. 182 p. [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/huam%C3%A1n\\_smml.pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/huam%C3%A1n_smml.pdf).
- CMPRALTA, Comisión Multisectorial para la Prevención y Recuperación Ambiental del lago Titicaca y sus afluentes. (2014). Estado de la calidad ambiental de la cuenca del lago Titicaca ámbito peruano. D. S. N° 075-2013-PCM. Página web: <http://www.minam.gob.pe/puno/wp-content/uploads/sites/55/2014/02/ESTUDIO-DEL-ESTADO-DE-LA-CALIDAD-AMBIENTAL-CUENCA-DEL-TITICACA..pdf>.
- Fairbrother, A., Wenstel R., Sappington K. & Wood W. (2007). Framework for Metals Risk Assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 68 (2): 145–227. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.03.015>.
- Fernández Riverón, F., López Hernández, J., Ponce Martínez, L. M., & Machado Betarte, C. (2003). Resistencia bacteriana. *Revista cubana de medicina militar*, 32(1), 0-0. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572003000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572003000100007)



- Figueroa González, M. V. (2020). Análisis de la tolerancia al plomo de daphnia spp.(pulga de agua) procediönte del lago Yahuarcocha (Bachelor's thesis).Universidad Técnica del Norte.
- González-Sanmamed, M., Estévez, I., Souto-Seijo, A., & Muñoz-Carril, P. C. (2020). Ecologías digitales de aprendizaje y desarrollo profesional del docente universitario. *Comunicar*, 28(62), 9-18.
- Govín, A., Reyes M., Guerra M. & Sánchez M. (2020). Caracterización de bacterias resistentes a metales pesados aisladas de un residual minero cubano. *Minería y Geología*. Vol. 56(2): 188-199. Recuperado de <https://www.redalyc.org/journal/2235/223563028005/223563028005.pdf>.
- Gómez, Y., Coto O., Abín L. & Hernández C. (2002). Método efectivo para el aislamiento de bacterias resistentes a níquel y cobalto. *Rev. CENIC Ciencias Biológicas. Cuba*. Vol. 33(1): 27 – 31.
- González, M. & Vargas J. (2016). Detección de genes de resistencia a cadmio, plomo y arsénico en bacterias acidófilas aisladas de residuos mineros. *Rev. Tlamati Sabiduría*. Vol. 7 (2): 1 – 5 p.
- Gutiérrez, O., Navarro L., Loeza P., Del Río O. & Jiménez R. (2017). Perfiles de resistencia a antibióticos y metales pesados en *Pseudomonas aeruginosa* potencialmente patógena aisladas de agua de uso agrícola. *Revista electrónica Nova Scientia*. Vol. 9(2):97-112.Recuperado de <https://www.scielo.org.mx/pdf/ns/v9n19/2007-0705-ns-9-19-00097.pdf>.
- Gutiérrez, V. (2018). Evaluación de la calidad de agua del río Coata en la desembocadura del río Torococha utilizando el índice de calidad de agua del Consejo Canadiense



- CCME-WQI y el ICA-PE, Puno – 2018. Tesis de Ing. Ambiental. Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Peruana Unión. Juliaca – Perú. 95 p.  
Recuperado de [https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/1771/Ver%C3%B3nica\\_Tesis\\_Licenciatura\\_2018.pdf?sequence=1](https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/1771/Ver%C3%B3nica_Tesis_Licenciatura_2018.pdf?sequence=1).
- Guzmán, C. (2004). Diagnóstico de enterobacterias durante el periodo septiembre – diciembre 2002 en la descarga del Boulevard las Torres del río Alseseca en el Municipio de Puebla. Tesis. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.
- Hernández, R., Fernández C. & Baptista M. (2014). Metodología de la investigación. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 600 p.
- Holloway, B. W. (1969). Genetics of pseudomonas. *Bacteriological reviews*, 33(3), 419-443.
- Horna, G., Silva M., Vicente W. & Tamaríz J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Rev. Med. Hered.* Vol. 16(1): 39-45. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v16n1/v16n1ao6.pdf>.
- Lema, J. (2019). Evaluación de la tolerancia a metales pesados: cobalto, mercurio y plomo en microorganismos aislados de laguna de Ozogoche en la Parroquia Achupallas del Cantón Alausí. Tesis de Ing. en Biotecnología Ambiental. Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Ley, N. 2067/2017-CR. (2009). Ley del programa de Sub. Lima. Diario el peruano.



- Muñoz, L., Olivera P., Santillán M. & Tamaríz C. (2019). Microorganismos tolerantes a metales pesados del pasivo minero Santa Rosa, Jangas (Perú). *Rev. Peruana de Biología*. Vol. 26(1): 109-118. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>.
- Majumder, S., Gupta S., Raghuvanshi S., Gupta S. & Majumder S. (2014). Removal of Dissolved Metals by Bioremediation. In S. K. Sharma (Ed.), *Heavy Metals in Water: Presence, Removal and Safety* (pp. 44–56). Cambridge: The Royal Society of Chemistry. Recuperado de [https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=BF\\_YBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA44&dq=bioremediation+wastewater+advantage&ots=Bw0F43Ydyo&sig=QwwGxpb45CNzQ4AwUdYleoOpZvM#v=onepage&q=bioremediation+wastewateradvantage&f=false](https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=BF_YBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA44&dq=bioremediation+wastewater+advantage&ots=Bw0F43Ydyo&sig=QwwGxpb45CNzQ4AwUdYleoOpZvM#v=onepage&q=bioremediation+wastewateradvantage&f=false)
- Mancera, N. & Álvarez R. (2006). Current State of Knowledge of the Concentration of Mercury and Other Heavy Metals in Fresh Water Fish in Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. Vol. 11 (1): 21. <https://doi.org/doi.org/toc/1900-1649/11/0>.
- Martínez, A., Cruz M., Veranes O., Carballo M., Salgado I., Olivares S., Lima L. & Rodríguez D. (2010). Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias aisladas del río Almendares. *Rev. CENIC Ciencias Biológicas*. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana – Cuba. Vol. 41: 1 – 10.
- Marrero Coto, J., Díaz Valdivia, A., & Coto érez, O. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41(1), 67-78. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181221644010.pdf>



- Mendo, M. (2003). Medios de cultivo en Microbiología. Manual de Laboratorio. Ediciones Laborales S. R. L. Lima – Perú. 238 p.
- Meseguer Ruiz, V., Carmona Martín, M., Polo Romero, F. J., Fernández Rodríguez, A., Romero, B., & Sáez Mendez, L. (2002, February). Bacteriemia por *Citrobacter freundii*: presentación de dos casos. In *Anales de Medicina Interna* (Vol. 19, No. 2, pp. 54-54). Arán Ediciones, SL.
- MINAM, Ministerio del Ambiente del Perú. (2013). Línea base ambiental de la cuenca del lago Titicaca. Viceministerio de Gestión Ambiental, Dirección General de Calidad Ambiental. MINAM. Lima – Perú. 85 p. Recuperado de <https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/Linea-Base-Ambiental-del-Lago-Titicaca.pdf>.
- Moraga, R., Merino C. & Mondaca M. (2003). Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. *Rev. Investigaciones Marinas*. Valparaíso. Vol. 31 (1): 91 – 95.
- Muñoz, A., Ruíz E., Moya M. & Espínola F. (2012). Biosorción de metales pesados por microorganismos aislados de aguas residuales. Panel presentado al Congreso Nacional de Medio Ambiente. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén. España.
- Muñoz, L., Olivera P., Santillán M. & Tamariz C. (2019). Microorganismos tolerantes a metales pesados del pasivo minero Santa Rosa Jangas (Perú). *Revista Peruana de Biología*. Vol. 26 (1): 109 - 118. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>.
- Naik, M. & Dubey K. (2013). Lead resistant bacteria: Lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. *Ecotoxicology and*



Environmental Safety. Vol. 98: 1–7.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.039>.

Navarrete, V. (2017). Aislamiento y caracterización del microbiota nativo de muestras de efluentes de curtiembres. Tesis de Ingeniera en Biotecnología Ambiental.

Núñez Cháves, R. Á. (2007). Técnicas in vitro para la biorremediación de cromo y plomo. Tecnológico de Costa Rica. Recuperado de <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/430>

Obando Gomez, S. D. M. (2021). Eficacia del efecto bactericida y conservante del alga (*Ulva* spp) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. Aplicado en agua utilizada en fundo privado de la provincia de Camaná. Arequipa, 2020.UCSM. Recuperado de <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/10601>

Panigatti, M., Griffa C., Boglione R., Gentinetta F. & Cassina D. (2012). Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). *Rev. Avances en Ciencia e Ingeniería*. Vol. 3(2): 11 – 24.

Patermina, R., Pérez A. & Vitola D. (2017). Presencia de bacterias rizosféricas resistentes a mercurio en suelos del sur de Bolívar, Colombia. *Rev. Colombiana Cienc Anim*. Vol. 9(Supl 2): 301-310. <http://dx.doi.org/10.24188/recia.v9.n2.2017.612>.

Ramírez, A. & Benítez N. (2013). Tolerancia y reducción de cromo (VI) por *Bacillus cereus* B1, aislado de aguas residuales de una curtiembre. *Revista de Ciencias*. Vol. 17 (2): 51 – 63.

Ramírez, A. V. (2008, March). Intoxicación ocupacional por mercurio. In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 69, No. 1, pp. 46-51). UNMSM. Facultad de Medicina.



- Sánchez, L. & Andrade A. (2009). Determinación de la concentración letal media (CL50-96) del cianuro, por medio de bioensayos sobre alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis de Ing. Ambiental y Sanitaria. Facultad de Ing. Ambiental y Sanitaria, Universidad de La Salle. Bogotá – Colombia. 297 p.
- Soto, C., Gutiérrez S., Rey A. & González E. (2010). Biotransformación de metales pesados y presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo. NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. Vol. 8 (14): 193 – 205.
- Tacuri, R. (2019). Determinación de la calidad de agua de pozos artesianos y sus aspectos ambientales asociados, Juliaca, Puno, 2018. Tesis de Maestro en Ciencias. Escuela de Posgrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Perú. 87 p.  
Recuperado de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/8842/UPMtaror.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Tapia, C. E. F., & Cevallos, K. L. F. (2021). PRUEBAS PARA COMPROBAR LA NORMALIDAD DE DATOS EN PROCESOS PRODUCTIVOS: ANDERSON-DARLING, RYAN-JOINER, SHAPIRO-WILK Y KOLMOGÓROV-SMIRNOV. *Societas*, 23(2), 83-106.
- Valdivia Infantas, M. M. (2019). Intoxicación por plomo. *Revista De La Sociedad Peruana De Medicina Interna*, 18(1), 22-27.  
<https://doi.org/10.36393/spmi.v18i1.248>
- Velasco, J., Araque M., Araujo E., Longa B., Ramírez A., Sánchez K. & Velazco E. (2011). Manual práctico de bacteriología clínica. Publicaciones Vicerrectorado Académico CODEPRE. Universidad de Los Andes. Venezuela. 206 p.  
Recuperado de



<http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>.

Yana, E. (2014). Contaminación por materia orgánica en el río Torococha de la ciudad de Juliaca, Tesis de Licenciado en Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 84 p. Recuperado de [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2402/Yana\\_Neira\\_Evelin\\_Amparo.pdf?sequence=1](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2402/Yana_Neira_Evelin_Amparo.pdf?sequence=1).

Yanchapanta Tamaquiza, E. P. (2022). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata como agente bactericida en aguas residuales. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17569>

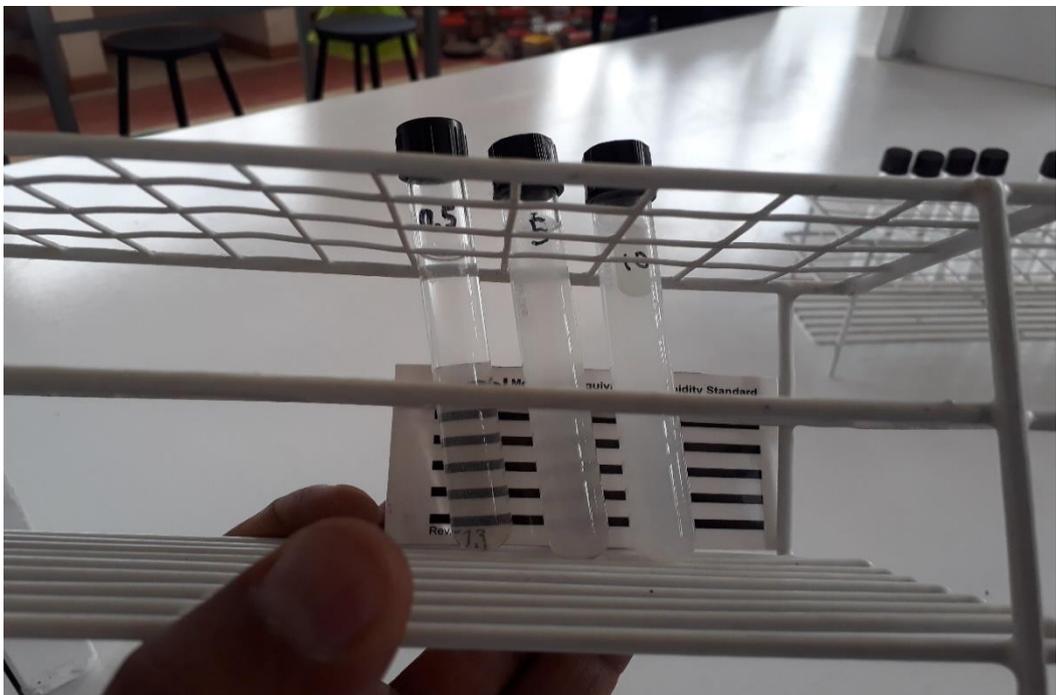


## ANEXOS

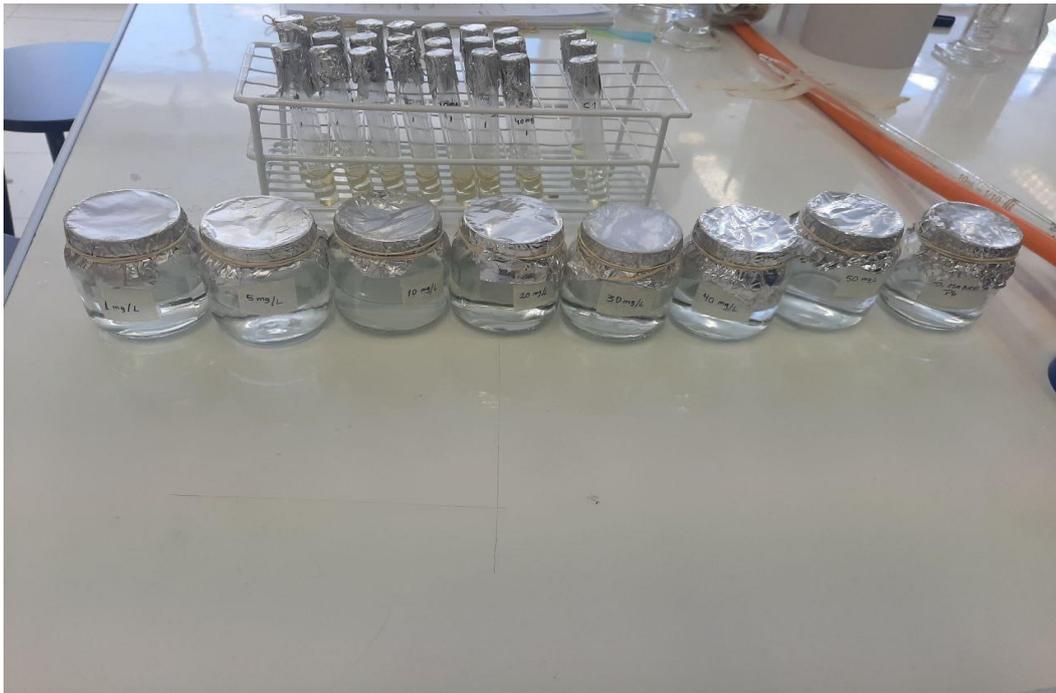
### Anexo 1. Panel fotográfico



**Figura 30.** Preparación de diluciones para determinar CMI y CMB de los metales Pb y Hg en las bacterias.



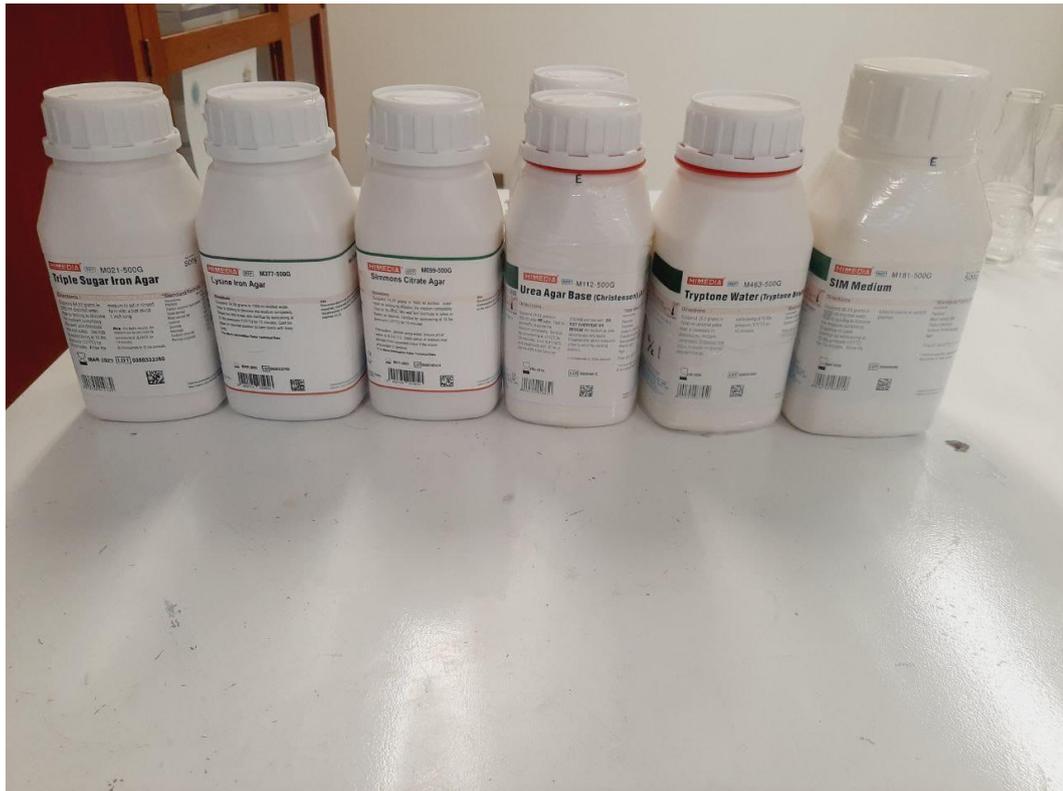
**Figura 31.** Preparación de soluciones McFarland para la obtención de diluciones bacterianas que fueron utilizadas en las evaluaciones de CMI y CMB.



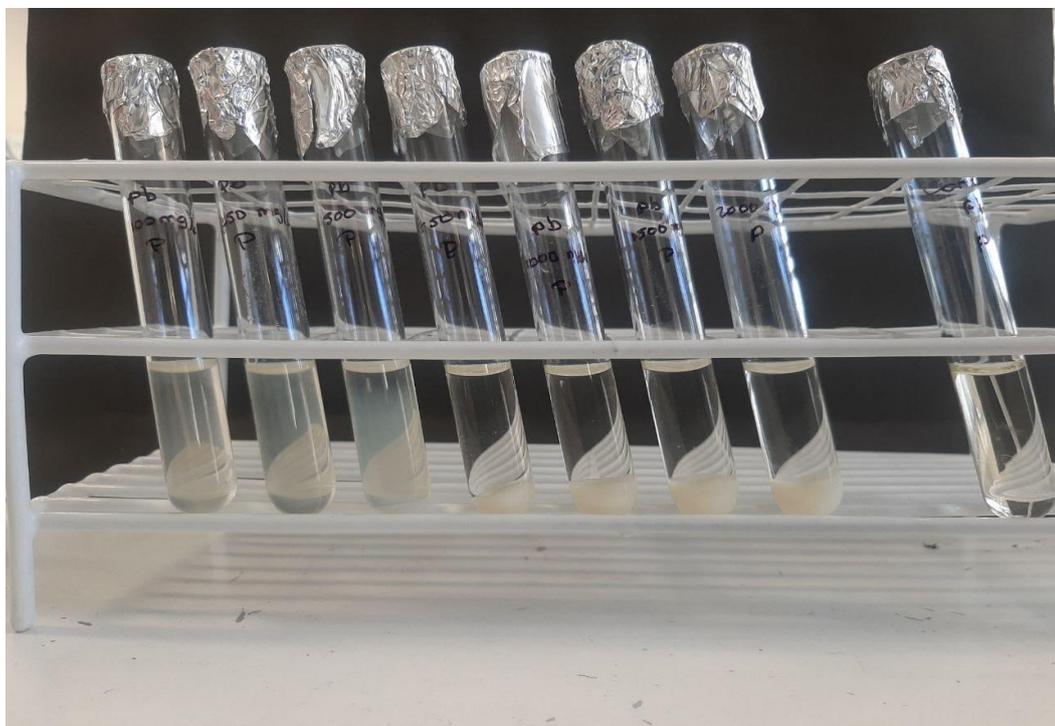
**Figura 32.** Preparación de las soluciones conteniendo metales pesados en concentraciones crecientes para la determinación de la CMI y CMB.



**Figura 33.** Preparación de pruebas diferenciales para la identificación bioquímica de *Citrobacter* sp.



**Figura 34.** Medios de cultivo utilizados para la investigación.



**Figura 35.** Resultados de la CMI de Plomo en *Pseudomonas* sp.



## Anexo 2. Cuadro de interpretación de pruebas bioquímicas

Tribu	Genero	Especie	MCK	Ox.	TSI	H2S	CO2	LIA	M	I	O	UREA	CS	FeA	MOT	NITR	IND	RM	VP	GLU-CO2	SAC	LAC	MAL	MAN	TREH	LIS	ARG	OR		
Escherichieae	Escherichia	E. coli	Lac +	-	K/A/A	-	+	K/K	+	+	V	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	d	-	-	-	V	-		
		E. coli (inactiva)	-	-	A/A	-	V	K/K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Shigella	S. dysenteriae	Lac -	-	K/A	-	-	K/A	+	+	-	-	-	-	-	-	V	+	+	+	+	+	+	d	-	-	-	-	-	
		S. sonnei*	dLac +	-	K/A	-	-	K/A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		S. flexneri	Lac -	-	K/A	-	V	K/A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	V	+	+	+	+	d	-	-	-	-	-	-	
Klebsielleae	Enterobacter	S. boydii	Lac -	-	K/A	-	-	K/A	+	+	V	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	d	-	-	-	-	-		
		E. cloacae	Lac +	-	A/A	-	+	K/A	+	+	-	-	V(65)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		E. aerogenes	Lac +	-	A/A	-	+	K/K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		E. gergoviae	Lac V	-	A/A	-	+	K/K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		Hafnia	H. alvei	dLac +	-	K/A/A	-	+	K/K	+	+	V	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	Klebsiella	K. ozaenae	Lac +	-	A/A	-	+	K/A,K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	V(40)	-
		K. oxytoca	Lac +	-	A/A	-	+	K/K	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		K. pneumoniae	Lac +	-	A/A	-	+	K/K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		K. rhinoscleromatis	Lac +/-	-	A/A	-	+	K/A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	-
		Serratia	S. marcescens	dLac +	-	K/A/A	-	+	K/K	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Pantoea	P. agglomerans	V(40)	-	K/A	-	-	K/A	+	+	V	V	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	Y. enterocolitica	Lac -	-	K/A	-	-	K/A	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-		
	Y. pestis	Lac -	-	K/A	-	-	K/A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
Citrobacterae	Citrobacter	C. freundii**	dLac +	-	K/A/A	+	+	K/A	+	+	-	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
		C. koserii	dLac +	-	K/A/A	+	+	K/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		C. amalonaticus	dLac +	-	K/A/A	+	+	K/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Salmonelleae	Salmonella	S. typhi	Lac -	-	K/A	+	-	K/K	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
		S. enteritidis	Lac -	-	K/A	+	-	K/K	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		S. cholerae suis	Lac -	-	K/A	V	-	K/K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		S. paratyphi	Lac -	-	K/A	+	-	K/K	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Proteae	Morganella	M. morganii	Lac -	-	K/A	+	-	K/R/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
		P. vulgaris	Lac -	-	K/A/A	+	-	R/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Providencia	P. rettgeri	dLac +	-	K/A	-	-	R/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		P. stuartii	dLac +	-	K/A	-	-	R/A	+	+	-	-	V(30)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		P. alcalifaciens	dLac +	-	K/A	-	-	R/A	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Vibrionaceae	Vibrio	V. parahaemolyticus	Lac -	+	K/A	-	-	K/K	+	+	+	V	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
		V. vulnificus	Lac -	+	A/A	-	-	K/K	+	+	+	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
		V. cholerae	Lac -	-	K/A/A	+	-	K/K	+	+	-	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		V. no cholerae	Lac -	-	A/A	-	-	K/K	+	+	-	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Aeromona	A. hydrophila	dLac -	+	K/A	-	-	K/A	+	+	d	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Plesiomonas	P. shigelloides	dLac -	+	K/A	-	-	K/K	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

V Variable  
d Dudoso  
- / + Mas del 50% Neg  
+ / - Mas del 50% Pos  
K Alkaline / Alcalino  
A Acid / Acido

HECHO POR CHARLIE Y UNA TAL MELISSA

Fermentadores rapidos de lactosa	Escherichia coli, Klebsiella, Enterobacter, Pantoea, (Serratia rubidaea)	
Fermentadores lentos de lactosa	Citrobacter, Serratia, Yersinia, (Shigella sonnei)*	
No Fermentadores	Shigella, Hafnia, Serratia, Yersinia, Salmonella, Proteus, Morganella, Providencia, Edwardsiella.	
H2S	Positivo	Salmonella, Proteus, Morganella, Edwardsiella, (C.freundii)**
	Negativo	Escherichia, Shigella, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, Serratia, Pantoea, Yersinia, Citrobacter, Providencia.
Motilidad	Positivo	Escherichia, Enterobacter, Hafnia, Serratia, Pantoea, Citrobacter, Salmonella, Morganella, Proteus, Providencia, Edwardsiella.
	Negativo	Shigella, Klebsiella, Yersinia.



**Anexo 3.** Base de datos de *Citrobacter* sp

muestra	punto	bacteria	hg_cmi	hg_CMB	pb_cmi	pb_cmb
1	pm1	cit	50	100	2000	1500
2	pm1	cit	50	50	1500	1500
3	pm1	cit	10	50	1000	1500
4	pm1	cit	50	50	1500	1000
5	pm1	cit	50	50	1500	1000
6	pm1	cit	100	200	500	500
7	pm1	cit	100	100	1000	500
8	pm1	cit	10	10	1000	1500
9	pm1	cit	10	10	1000	1500
10	pm1	cit	50	100	1500	1500
11	pm1	cit	50	100	1500	1500
12	pm1	cit	10	50	1500	1000
1	pm2	cit	100	100	1500	2000
2	pm2	cit	100	100	2000	2000
3	pm2	cit	200	200	2000	2000
4	pm2	cit	200	100	2000	1500
5	pm2	cit	200	100	2000	1500
6	pm2	cit	100	200	1500	1500
7	pm2	cit	100	200	1500	1500
8	pm2	cit	200	200	1500	2000
9	pm2	cit	200	200	1500	2000
10	pm2	cit	200	100	2000	2000
11	pm2	cit	200	100	1500	1500
12	pm2	cit	200	100	1500	1500
1	pm3	cit	100	200	1000	1500
2	pm3	cit	200	200	1500	1500
3	pm3	cit	100	100	1500	2000
4	pm3	cit	50	100	1500	1500
5	pm3	cit	100	200	2000	1500
6	pm3	cit	200	200	2000	2000
7	pm3	cit	200	200	2000	1500
8	pm3	cit	100	200	1500	2000
9	pm3	cit	100	100	1500	2000
10	pm3	cit	100	100	1500	2000
11	pm3	cit	100	100	1000	2000
12	pm3	cit	200	200	1000	2000



#### Anexo 4. Base de datos *Pseudomonas* sp

muestra	punto	bacteria	hg_cmi	hg_cmb	pb_cmi	pb_cmb
1	pm1	Pse	50	50	500	500
2	pm1	pse	200	200	500	1000
3	pm1	pse	50	200	500	500
4	pm1	pse	10	10	1000	500
5	pm1	pse	10	50	500	500
6	pm1	pse	10	10	1000	500
7	pm1	pse	10	50	500	500
8	pm1	pse	50	50	1000	1000
9	pm1	pse	50	50	1000	500
10	pm1	pse	50	10	1000	1000
11	pm1	pse	50	50	1000	1000
12	pm1	pse	50	50	1000	500
1	pm2	pse	200	200	1500	2000
2	pm2	pse	200	100	1500	1500
3	pm2	pse	200	100	1500	2000
4	pm2	pse	100	100	2000	2000
5	pm2	pse	200	200	2000	1500
6	pm2	pse	200	200	2000	2000
7	pm2	pse	200	200	1500	2000
8	pm2	pse	100	200	2000	2000
9	pm2	pse	100	100	500	2000
10	pm2	pse	50	100	500	500
11	pm2	pse	10	100	500	500
12	pm2	pse	200	200	2000	1000
1	pm3	pse	100	200	1500	2000
2	pm3	pse	200	200	1500	1000
3	pm3	pse	200	200	1500	1500
4	pm3	pse	100	200	2000	2000
5	pm3	pse	100	100	2000	1500
6	pm3	pse	100	100	2000	1500
7	pm3	pse	100	200	2000	2000
8	pm3	pse	100	100	1000	1500
9	pm3	pse	200	200	1500	2000
10	pm3	pse	100	100	1000	1000
11	pm3	pse	200	200	1000	1500
12	pm3	pse	200	200	1500	1500



## Anexo 5. Constancia de ejecución



*Universidad Nacional del Altiplano de Puno*

Facultad de Ciencias Biológicas  
Escuela Profesional de Biología  
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico  
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



**Registro: 013-2022**

### **CONSTANCIA**

EL QUE SUSCRIBE, **DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BOTÁNICA Y BIOTECNOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

#### **HACE CONSTAR:**

Que el (la) Bachiller **CRISTIAN EMILIO CHAVEZ GAMARRA**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS A CONCENTRACIONES *IN VITRO* DE MERCURIO Y PLOMO PRESENTES EN EL RÍO TOROCOCHA DE JULIACA - 2022**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de agosto a octubre del año 2022.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 24 de octubre del 2022.

  
**JUAN JOSÉ PAURO ROQUE, Dr. Sc.**  
Responsable del Laboratorio de Botánica y Biotecnología  
FCCBB – UNA Puno



## Anexo 6. Autorización para el depósito de tesis o trabajo de investigación en el repositorio institucional.



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo CESKIN ENILIO CHAVEZ GATAREO identificado con DNI 73664033 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

DE BIOLOGIA  
informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS A CONCENTRACIONES IN VITRO DE MERCURIO Y PLOMO PRESENTES EN EL RIO TOROCHOCHA DE JULICA - 2022 ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 27 de DICIEMBRE del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella



## Anexo 7. Declaración jurada de autenticidad de tesis



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Cristian Emilio Chavez Gattardo  
identificado con DNI 73664033 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

DE BIOLOGIA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

" SUPERVIENCIA DE BACTERIAS A CONCENTRACIONES IN  
VITRO DE MERCURIO Y PLOMO PRESENTES EN EL RIO  
TOROCCANO DE JULIACA - 2022 "

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 27 de DICIEMBRE del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella