



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



**TOLERANCIA *IN VITRO* A LOS INSECTICIDAS
CYPERMETHRIN Y CHLORPYRIFOS EN *Azotobacter* sp
AISLADAS DE TRES CAMPOS DE CULTIVO DE LA REGIÓN
PUNO**

TESIS

PRESENTADA POR:

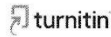
Bach. MARTHA GISELA YANA CHAIÑA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2024



Martha Gisela Yana Chaiña

**TOLERANCIA IN VITRO A LOS INSECTICIDAS
CYPERMETHRIN Y CHLORPYRIFOS EN Azotobacter sp AISLA...**

Universidad Nacional del Altiplano

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::8254:416907470

84 Páginas

Fecha de entrega
17 dic 2024, 10:07 a.m. GMT-5

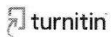
14,597 Palabras

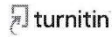
Fecha de descarga
17 dic 2024, 12:48 p.m. GMT-5

83,309 Caracteres

Nombre de archivo
TOLERANCIA IN VITRO A LOS INSECTICIDAS CYPERMETHRIN Y CHLORPYRIFOS EN Azotobacter s.....docx

Tamaño de archivo
5.9 MB





10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 9% Fuentes de Internet
- 2% Publicaciones
- 5% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

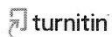
N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Mg. Diana E. Caverro Zegarra
Bigo.Mg. Diana Elizabeth Caverro Zegarra
DOCENTE
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNA PUNO





UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

TOLERANCIA IN VITRO A LOS INSECTICIDAS CYPERMETHRIN Y
CHLORPYRIFOS EN *Azotobacter sp* AISLADAS DE TRES CAMPOS DE
CULTIVO DE LA REGIÓN PUNO

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. MARTHA GISELA YANA CHAÑA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Dra. ROXANA DEL CARMEN MEDINA ROJAS

PRIMER MIEMBRO:


Dr. LUIS ANGEL PAUCAR FLORES

SEGUNDO MIEMBRO:


M.Sc. NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO

DIRECTOR / ASESOR:


Mg. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 19/12/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnóstico y Epidemiología




V^oB^o Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS
- DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



DEDICATORIA

A mis padres, porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona, a mi hermana por sus palabras y su apoyo incondicional.

Martha Gisela Yana Chaiña



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Altiplano de Puno.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, Programa de estudios Microbiología y Laboratorio Clínico.

Martha Gisela Yana Chaiña



ÍNDICE GENERAL

Pág.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ACRÓNIMOS

RESUMEN.....14

ABSTRACT..... 15

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 OBJETIVO GENERAL 17

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES 19

2.2 MARCO TEÓRICO 23

2.2.1 Suelos 23

2.2.2 Rizosfera y el componente biológico de los suelos 31

2.2.3 Agroquímicos 33

2.2.4 Tolerancia bacteriana a los insecticidas 39

2.2.5 *Azotobacter sp* 40



2.2.6	Biorremediación bacteriana frente a los insecticidas	44
2.2.7	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	46
2.2.8	Concentración mínima inhibitoria (CMB)	47

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	ZONA DE ESTUDIO	48
3.2	DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	49
3.3	POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA.....	49
3.4	DETERMINACIÓN DE LA CMI DE LOS INSECTICIDAS SOBRE <i>AZOTOBACTER SP</i>.....	50
3.4.1	Colecta de suelos	50
3.4.2	Aislamiento de microorganismos de suelo	51
3.4.3	Pruebas de tolerancia mediante la CMI	51
3.4.4	Variables analizadas.....	53
3.5	DETERMINACIÓN DE LA CMB DE LOS INSECTICIDAS SOBRE <i>AZOTOBACTER SP</i>.....	53
3.5.1	Prueba para la determinación de la CMB	53
3.5.2	Variables analizadas.....	54

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE LOS INSECTICIDAS SOBRE <i>AZOTOBACTER SP</i>	55
4.2	CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS INSECTICIDAS SOBRE <i>AZOTOBACTER SP</i>.....	61
V.	CONCLUSIONES.....	68



VI. RECOMENDACIONES	69
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS.....	78

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnóstico y Epidemiología

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 19 de diciembre del 2024.



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Concentraciones seriadas para la determinación de la CMI de los insecticidas en bacterias del género <i>Azotobacter</i> sp.	53
Tabla 2 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Cypermethrin frente a <i>Azotobacter</i> sp.	55
Tabla 3 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Chlorpyrifos frente a <i>Azotobacter</i> sp.	57
Tabla 4 Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Cypermethrin frente a <i>Azotobacter</i> sp.	61
Tabla 5 Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Chlorpyrifos frente a <i>Azotobacter</i> sp.	63



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Ubicación de las comunidades de Collana Chillora (Z1), San Francisco de Buena Vista (Z2) y Canchi Huañingora (Z3), evaluadas en el distrito de Caracoto, provincia de San Román, región Puno.....	48
Figura 2 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Cypermethrin en <i>Azotobacter</i> sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.....	56
Figura 3 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Chlorpyrifos en <i>Azotobacter</i> sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.....	58
Figura 4 Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Cypermethrin en <i>Azotobacter</i> sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.....	62
Figura 5 Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Chlorpyrifos en <i>Azotobacter</i> sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.....	63



ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Llegada a las zonas de muestreo de suelo en el distrito de Caracoto.	78
ANEXO 2. Recolección de muestras de suelo en las comunidades del distrito de Caracoto.....	78
ANEXO 3. Recolección de muestras de suelo en la comunidad de Canchi Huañingora en el distrito de Caracoto.	79
ANEXO 4. Rotulado de las muestras de suelo de la comunidad de Canchi Huañingora en el distrito de Caracoto para su envío al laboratorio.	79
ANEXO 5. Preparación de medios de cultivo líquidos para determinar la CMI y CMB de <i>Azotobacter</i> sp frente a los insecticidas.	80
ANEXO 6. Aislamiento de <i>Azotobacter</i> sp en medio mineral sin nitrógeno, a partir de muestras de suelos de comunidades del distrito de Caracoto.	80
ANEXO 7. Preparación de las concentraciones bacterianas en suero fisiológico comparados con el estándar 0.5 Macfarland.....	81
ANEXO 8. Preparación de las concentraciones de los insecticidas en el laboratorio de microbiología - FCCBB.	81
ANEXO 9. Placas petri conteniendo medio mineral sin nitrógeno con CMB de los insecticidas sobre <i>Azotobacter</i> sp.	81
ANEXO 10. Constancia de elaboración de tesis en laboratorio.....	82
ANEXO 11. Autorización	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ANEXO 12. Declaración jurada.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.



ACRÓNIMOS

%:	Porcentaje
°C:	Grados centígrados
CMB:	Concentración mínima bactericida
CMI:	Concentración mínima inhibitoria
et al.:	Y colaboradores
g:	Gramo
mm:	Milímetros
pH:	Potencial de hidrogeniones
UFC/ml:	Unidades formadoras de colonia por ml de dilución



RESUMEN

La aplicación de insecticidas químicos en los campos de cultivo para controlar insectos plagas ocasiona daños a los seres vivos y los microorganismos biofertilizantes como *Azotobacter* sp, lo que origina su disminución afectando la fertilización natural de los suelos. Por esta razón, los objetivos fueron: determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos sobre *Azotobacter* sp aislados en suelos de las comunidades de Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora del distrito de Caracoto, provincia de San Román, región Puno. La investigación fue de tipo correlacional con un diseño experimental. Se evaluaron un total de 60 muestras de suelos de tres comunidades durante tres meses. Las bacterias *Azotobacter* sp fueron aisladas en medio mineral sin nitrógeno y pruebas bioquímicas para su identificación. Los métodos para determinar la CMI y CMB fueron la microdilución en tubo mediante la observación de la turbidez originada por el crecimiento bacteriano y microdilución en placa mediante el crecimiento de colonias, respectivamente. Las concentraciones evaluadas fueron del 5 %, 6 %, 7 % y 8 % para Cypermethrin y del 0.10 %, 0.12 %, 0.14 % y 0.16 % para Chlorpyrifos. Los resultados fueron: la CMI de Cypermethrin fue del 7 % al 8 % y la de Chlorpyrifos de 0.12 % al 0.14 %; la CMB fue Cypermethrin fue del 9 % y de Chlorpyrifos del 0.16 %. Se concluye que los aislamientos de *Azotobacter* sp de los campos de cultivos en las comunidades de Caracoto presentan tolerancia a los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos, pero ante una aplicación de insecticidas en concentraciones altas, muchos seres vivos edáficos pueden ser afectados disminuyendo su población.

Palabras clave: *Azotobacter* sp, Concentración mínima inhibitoria, Concentración mínima bactericida, Cypermethrin, Chlorpyrifos, Insecticida.



ABSTRACT

The application of chemical insecticides in crop fields to control insect pests causes damage to living beings and biofertilizing microorganisms such as *Azotobacter* sp, which causes their decrease affecting the natural fertilization of soils. For this reason, the objectives were: to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the insecticides Cypermethrin and Chlorpyrifos on *Azotobacter* sp isolated in soils of the communities of Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista and Canchi Huañingora in the district of Caracoto, province of San Román, Puno region. The research was of a correlational type with an experimental design. A total of 60 soil samples from three communities were evaluated for three months. The bacteria *Azotobacter* sp were isolated in a mineral medium without nitrogen and biochemical tests were carried out for their identification. The methods for determining MIC and MBC were tube microdilution by observing turbidity caused by bacterial growth and plate microdilution by colony growth, respectively. The concentrations evaluated were 5 %, 6 %, 7 % and 8 % for Cypermethrin and 0.10 %, 0.12 %, 0.14 % and 0.16 % for Chlorpyrifos. The results were: the MIC of Cypermethrin was 7 % to 8 % and that of Chlorpyrifos was 0.12 % to 0.14 %; the MBC was 9 % for Cypermethrin and 0.16 % for Chlorpyrifos. It is concluded that *Azotobacter* sp. isolates from crop fields in the communities of Caracoto are tolerant to the insecticides Cypermethrin and Chlorpyrifos, but when insecticides are applied in high concentrations, many soil living beings may be affected, decreasing their population.

Keywords: *Azotobacter* sp, Minimum inhibitory concentration, Minimum bactericidal concentration, Cypermethrin, Chlorpyrifos, Insecticide.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes más importantes de los campos de cultivo en suelos de la región Puno son los insecticidas y fertilizantes químicos. Según Delgado et al. (2018), los niveles de pesticidas en los alimentos de origen animal y vegetal evaluados por el SENASA son preocupantes. Dichos contaminantes generan impactos negativos en los ecosistemas acuáticos, la flora, la fauna y los microorganismos, provocando la erosión y disminución de la fertilidad de los suelos. Tal como lo afirma Vargas et al. (2019), los plaguicidas producen un impacto ambiental negativo en los ecosistemas, ya que contribuyen directamente al descenso de la microfauna, lo que disminuye los procesos de nitrificación y descomposición de la celulosa. Esto interrumpe las funciones de los hongos, bacterias y microartrópodos.

La investigación se llevó a cabo debido a que en las tiendas de agroquímicos de la ciudad de Puno se comercializa una gran variedad de insecticidas, las cuales son adquiridos y aplicados por los agricultores de la región en diferentes estados fenológicos de las plantas mediante la fumigación, sin conocer los verdaderos efectos que estos productos tienen sobre la salud pública y al ambiente. Para esta investigación se seleccionaron dos insecticidas, Cypermethrin y Chlorpyrifos, ambos disponibles en las tiendas de agroquímicos en la ciudad de Puno. La hipótesis planteada fue que estos insecticidas disminuirían la población de microorganismos bacterianos como *Azotobacter* sp, los cuales poseen propiedades importantes en los campos de cultivo. Estas bacterias son capaces de producir fitohormonas, actuar como antagonicas de fitopatógenos en la rizósfera, fijar nitrógeno, entre otras funciones, y podrían ser sensibles a los insecticidas.



Por lo tanto, en esta investigación se planteó evaluar el efecto de dos insecticidas (Cypermethrin y Chlorpyrifos) en el crecimiento *in vitro* de *Azotobacter* sp, aislados de los campos de cultivos de las comunidades de Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora, ubicadas en el distrito de Caracoto, provincia de San Román, región Puno. Esto se realizó mediante pruebas de tolerancia de la bacteria a concentraciones crecientes de los insecticidas, con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) y así establecer los efectos de ambos insecticidas en bacterias benéficas como *Azotobacter* sp.

Por lo tanto, esta investigación resulta de vital importancia para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos en *Azotobacter* sp. Esto permitirá identificar las concentraciones máximas tolerables de estos compuestos, contribuyendo a informar sobre su uso adecuado. Así se podrá minimizar el impacto negativo en los microorganismos biofertilizantes y prevenir el uso indiscriminado causado por el desconocimiento de los agricultores.

Por tales motivaciones la investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la tolerancia *in vitro* a los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos e *Azotobacter* sp aisladas de tres campos de cultivo del distrito de Caracoto, provincia de San Román, región Puno.



1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos sobre *Azotobacter* sp aislados de las comunidades de Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora del distrito de Caracoto y provincia de San Román, región Puno.
- Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos sobre *Azotobacter* sp aislados de las comunidades de Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora del distrito de Caracoto y provincia de San Román, región Puno.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Santander et al. (2024), en el departamento Central, Paraguay, determinaron la tolerancia intrínseca de *Bacillus subtilis* a concentraciones de cipermetrina doméstica. Reportando una disminución significativa del crecimiento bacteriano a concentraciones del 30 %.

Mamani (2020), en Puno, Perú, reportó recuentos bacterianos de 51 – 98 UFC/g en Ichu; 82 – 93 UFC/g en Jayllihuaya y 271 – 289 UFC/g en Huerta Huaraya. Las bacterias *Bacillus* sp y *Pseudomonas* sp mostraron mayor tolerancia a insecticidas al 6 %.

Vargas et al. (2019), en la Comarca Lagunera, México, identificaron plaguicidas de mayor impacto ambiental, como clorotalonil, azufre elemental y endosulfan en Mapimí; carbendazim, endosulfan y carbofuran, en Matamoros-Viezca, y mancozeb, oxiclورو de cobre y endosulfan en Tlahualilo.

Mireles et al. (2018), en México, indicaron que el insecticida imidacloprid es degradado por microorganismos de suelo, transformándose en metabolitos secundarios de menor toxicidad. Aislaron 26 cepas bacterianas, de las cuales el 63 % mostró alta tolerancia al insecticida.

Ruíz (2018), en San Luis, Ecuador, evaluó la influencia de insecticidas en la morfofisiología microbiana. Rugby afectó al 99.2 % de los microorganismos aislados, mientras que la mezcla Tryclan y Sharfip no impactó al 61.4 %. El 33.3 % sufrió alteraciones morfofisiológicas y el 5.3 % severamente afectado.



Ríos (2018), en Riobamba, Ecuador, analizó el crecimiento de hongos filamentosos frente a varios plaguicidas. Acefato permitió un crecimiento óptimo, mientras que brillante, curacron, glifosato y ridomil tuvieron efectos moderados, y Vitavax redujo significativamente el crecimiento, excepto en *Trichoderma harzianum*.

Morrillo (2017), en Mocache Los Ríos, Ecuador, reportó que microorganismos seleccionados lograron degradar cipermetrina, glifosato y clorpirifo en un plazo de 15 días, ya que éstos pesticidas se constituyen en fuentes de carbono.

Montoya (2017), en el Municipio de Prado, Colombia, aisló 26 cepas bacterianas de suelos arroceros, exponiendo 12 de ellas a concentraciones de fenol (125, 250 y 500 ppm) durante 48 horas. *Sphingomonas paucimobilis* y *Bacillus subtilis* presentaron la mayor degradación sin necesidad de adaptación previa.

Hernández et al. (2017), señalaron que la biorremediación convierte plaguicidas como clorpirifós en compuestos más simples y menos tóxicos mediante el metabolismo microbiano de bacterias como *Serratia*, *Bacillus* y *Pseudomonas*. Este proceso depende de factores como la biodisponibilidad, la concentración del organofosforado, del pH, la temperatura y el tipo de suelo.

Jaramillo et al. (2016), en Cartagena de Indias, Bolívar, Colombia, aislaron tres cepas bacterianas de la familia Enterobacteriaceae que degradaron pesticidas organofosforados a concentraciones de 200 ppm en 30 días de tratamiento.

Bachetti (2016), en Córdoba, Argentina, evaluó el efecto de un herbicida en comunidades bacterianas nativas. Un aislamiento de *Arthrobacter* sp. AAC22, mostró un potencial catabólico del herbicida debido a los genes *trzN* y *atzBC*. Además, alcanzó una alta biomasa (7×10^8 UFC/ml) en medio mínimo con 300 ptg/ml de atrazina como fuente



de nitrógeno.

Goycochea y Carranza (2016), en Moyobamba, Perú, analizaron las consecuencias ambientales y sociales del uso de agroquímicos, identificando problemas como persistencia, bioacumulación en suelos y contaminación de cuerpos de agua, además de enfermedades en la población.

Marín y Jaramillo (2015), en suelos de Córdoba, Colombia, identificaron concentraciones de demeton-S-metilsulfón de 272.9 a 1793.3 mg/kg y reportaron que las bacterias nativas *Bacillus* sp y *Pantoea agglomerans* lograron degradar clorpirifos entre 73.5 % y el 68.67 %.

Leal et al. (2014), en el Estado de Sonora, México, detectaron residuos de plaguicidas organoclorados en diferentes localidades: Caborca (1.22 – 9.62 µg/kg), Hermosillo (hasta 7.49 µg/kg), Magdalena (0.73 – 24.40 µg/kg), Ures (hasta 18.78 µg/kg) y Guaymas (1.43 – 45.75 µg/kg), destacando compuestos como DDE, endosulfán, γ -clordano, heptacloro epóxido y endrín como los más prevalentes.

Calle y Ode (2014), en el valle del río Apurímac, Ene y Mantaro, Perú, estudiaron la capacidad biodegradadora de carbofurán por bacterias de los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Bacillus*, *Corynebacterium* y *Aeromonas* en cultivos de *Theobroma cacao*; así como *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* y *Proteus* en cultivos de *Erythroxylum coca*.

Pérez (2014), en Imbabura, Ecuador, aisló bacterias *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter* sp y *Arthrobacter* sp, logrando biodegradar al 100% el pesticida Cleaner.

Tirado et al. (2014), en suelos de Cartagena, Bolívar, Colombia, evaluaron la biodegradación de 200 ppm de Monocrotofos en 30 días. Las bacterias *Enterobacter*



cloacae, *Klebsiella oxytoca* y *Pseudomonas aeruginosa*, redujeron significativamente el pesticida en las 72 horas de incubación.

Tolga (2012) en Turquía evaluó las CMI y LA CMB de ácido bórico y bórax, utilizado como fertilizante, insecticida, inhibidor de corrosión, entre otros usos, frente a las cepas bacterianas mediante el método de dilución en caldo y obtuvo los siguientes resultados: el CMI y CMB del ácido bórico fue en *Staphylococcus aureus* 3.80 mg/ml, *Acinetobacter septicus* 3.80 mg/ml, *Escherichia coli* 7.60 mg/ml y *Pseudomonas aeruginosa* 7.60 mg/ml; por otro las CMI y la CMB del bórax fue *Staphylococcus aureus* 23.80 mg/ml, *Acinetobacter septicus* 23.80 mg/ml, *Escherichia coli* 47.60 mg/ml y *Pseudomonas aeruginosa* 47.60 mg/ml.

Castellanos (2012), determinó la biodegradación microbiana de N-metilcarbamatos a través de la vía hidrolítica, utilizando bacterias *Sphingomonas* sp y *Novoshingobium* sp, destacadas por su alta plasticidad metabólica frente a este tipo de compuestos.

Sánchez y Henry (2012), utilizaron *Bacillus licheniformis* y lograron degradar el 24 % del contaminante agroquímico Aldrín persistente en Santa Marta, Colombia, demostrando su capacidad de tolerancia y degradación en condiciones aerobias.

Rivera et al. (2010), en un estudio realizado en Colombia, evaluaron el efecto de diferentes agroquímicos cuyos principios activos incluyen Carboxin, Tiram, Imidacloprid, Cipermetrina, S-metolachloro, Fluometuron, urea y Glifosato, sobre la viabilidad del inoculante biológico Monibac[®] - Corpoica, cuya base es *Azotobacter chroococcum* AC1. Utilizando las técnicas de concentración mínima inhibitoria y de compatibilidad, determinaron que el microorganismo presentó susceptibilidad a



cipermetrina al 50 %. Al ser mezclado con los demás plaguicidas en las dosis comúnmente utilizadas en campo, no se observaron efectos significativos en la aplicación de los otros productos.

Montoro et al. (2009), en un estudio realizado en Chupaca y Concepción, región Junín, Perú, señalaron que los agricultores manipulan directamente plaguicidas extremadamente y altamente peligrosos, como Tameron® y Furadan®. Esta práctica puede originar casos de intoxicación, cuyos reportes se incrementaron entre los años 2001 a 2004.

Quinchía et al. (2006), reportaron la tolerancia de *Pseudomona* sp al insecticida Lorsban 4EC en Antioquía, Colombia. Al exponerla a concentraciones de 480 ppm, 4800 ppm, 24000 ppm y 48000 ppm, observaron que esta bacteria logró resistir al insecticida en todas las concentraciones estudiadas, lo que sugiere que podría poseer la capacidad de degradarlo.

Hernández et al. (2005), aislaron diez cepas bacterianas a partir de nódulos de la leguminosa *Desmodium tortuosum* en Veracruz, México. Estas cepas fueron sometidas a Malatión, lo que resultó en una disminución de su concentración y en la producción de compuestos intermedios, como los ácidos O,O,S-trimetil fosfotioico y O,O,Strimetil fosforoditioico, así como dimetil éster y ácido tiofenilcarboxílico.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Suelos

El suelo es la capa más externa de la tierra, donde crecen las plantas. Proporciona los nutrientes esenciales para el desarrollo vegetal y actúa como un reservorio de las aguas de lluvia el cual son utilizadas por las plantas, además



permite a las raíces obtener el aire necesario para su supervivencia. Los suelos se extienden tanto en superficie como en profundidad y está compuesta por varias capas, que son conocidas como horizontes. Cada horizonte presenta características físicas y químicas diferentes, que es reflejado en su apariencia el cual puede observarse en cortes de caminos o barrancas (INIA, 2015).

El suelo es una capa delgada, que varía desde unos pocos centímetros hasta varios metros de grosor, está compuesto por material terroso no consolidado, y se forma en la interfase entre la atmósfera, la biosfera y la litosfera. En esta capa, interactúan elementos como el aire, el agua, la temperatura y el viento y componentes de la litosfera como rocas y sedimentos y la biosfera. Ocurren intercambios de materiales y energía entre lo inerte y lo vivo, generando una gran complejidad (Jaramillo et al., 1994).

Actúa como un medio de crecimiento para una diversa comunidad de organismos vivos. Desempeña la función como un reactor biofísico-químico, descomponiendo materiales de desecho y reciclando nutrientes en su interior, permitiendo la regeneración continua de la vida en la Tierra (Hillel, 1998).

2.2.1.1 Horizontes de los suelos

- **El horizonte A** es la capa superior con característica oscura, donde alcanza el máximo desarrollo de los microorganismos y pequeños animales, Así mismo, presenta un alto contenido de materia orgánica, que es responsable de la fertilidad del suelo.

- **El horizonte B** es la capa enriquecida de arcillas y sales que provienen de la infiltración del agua en el perfil, que es la principal característica para conocer potencial productivo de un suelo.
- **El horizonte C** está compuesta por material mineral que es formado por la descomposición de las rocas; incorpora la materia orgánica que con el transcurso de los años permite la formación del suelo (INIA, 2015).

Figura 1

Horizontes de los suelos.



Fuente: Osorio et al. (2021).

2.2.1.2 Componentes de los suelos

El suelo agrícola está compuesto principalmente por cuatro elementos: 25 % de aire, 25 % de agua, 5 % de materia orgánica que incluye a los microorganismos que habitan en el suelo y 45 % de minerales. La proporción de cada uno de estos componentes determina las



características del suelo, su fertilidad y capacidad para la agricultura (Hosokay, 2012).

La capa superior de la corteza terrestre, prospera una rica diversidad de organismos y vegetación que es formado a partir de la descomposición de rocas, impulsada por cambios bruscos de temperatura, humedad, aire y la acción de organismos vivos. El suelo se constituye como un sistema trifásico, compuesto por una mezcla de partículas sólidas y espacios porosos, que incluye sólidos, líquidos y gases. Su importancia está influenciada con el ciclo del agua que son procesos fundamentales para la mayoría de las transformaciones de energía y materia en los ecosistemas. El suelo es un recurso no renovable, cuya disponibilidad es amenazada por procesos continuos de degradación y destrucción, ya sea por las actividades humanas o de origen natural (Ramírez, 2022).

2.2.1.3 Suelos según su origen

Los suelos en el departamento de Puno se han originado a partir de materiales parentales de diverso origen:

- a. **Suelos lacustres.** Está formado por materiales finos que son de origen lacustre, cercanas al lago Titicaca y se encuentran limitados por la capa freática alta. Están ubicados en superficies planas a levemente depresionadas, y en el norte del departamento, los suelos poseen una textura fina, reacción neutra a alcalina, alto contenido de sales y sodio intercambiable y drenaje imperfecto a pobre (GRP, 2014).



- b. Suelos aluviales recientes.** Se forman a partir de materiales por acción fluvial (ríos), se ubican en superficies planas a ligeramente inclinadas, son poco profundos a superficiales, presenta un perfil poco evolucionado con textura media a gruesa, reacción neutra a ácido y drenaje moderado a algo excesivo, su profundidad está limitada por una capa arenosa con abundante grava (GRP, 2014).
- c. Suelos aluviales subrecientes.** Se forman de materiales aluviales de origen más antiguo que la anterior clasificación, están distribuidos es superficies planas a ligeramente inclinadas, son moderadamente profundos, con ligera evolución, textura media a fina, reacción neutra a moderadamente ácido y drenaje variado (GRP, 2014).
- d. Suelos coluvio – aluviales.** Se formaron de materiales originados por la acción de las precipitaciones y la gravedad, están distribuidos en superficies de laderas, en pie de montes de colinas y montañas, así como en conos de deyección, presenta un perfil edáfico profundo, con una evolución variada, textura media a gruesa, reacción neutra a fuertemente ácido y drenaje algo excesivo a imperfecto, presentan contenido de gravas y piedra pequeña y redondeada (GRP, 2014).
- e. Suelos glaciales.** Están firmados de materiales de origen fluvio glacial, se distribuyen en zonas de relieve plano a empinado, en la zona occidental, su perfil edáfico es profundo, poco evolucionado, textura gruesa a media, reacción ácida y de drenaje bueno a



moderado, con contenido de gravas y guijarros, y piedras en lugares de menor pendiente (GRP, 2014).

- f. **Suelos de materiales residuales.** Se forman desde materiales originados en el lugar, derivan de rocas volcánicas, rocas sedimentarias, intrusivas, entre otras, están distribuidas en todo el departamento de Puno, iniciando en las zonas onduladas hasta llegar a las montañas, su perfil edáfico tiene una profundidad efectiva variada, generalmente contienen material grueso y en superficies de afloramiento lítico (GRP, 2014).
- g. **Suelos de origen antrópico.** Estos fueron modificados por acción antrópica, se encuentran en los andenes, y fueron construidos en laderas de montañas, para aprovechar las superficies inclinadas y así evitar la erosión, por otro lado, se tiene los camellones o waru – warus, que se construyen en superficies planas, y así se aprovecha las áreas con napa freática alta (GRP, 2014).

2.2.1.4 Fases de los suelos

Las características del suelo para el uso, manejo de una unidad taxonómica son fundamentales para identificar las fases del suelo, mismos que se detallan a continuación:

- a. **Fase por Pendiente:** Es el grado de inclinación de la superficie del suelo en relación con la horizontal. Se mide en porcentaje, representando la diferencia de altura en un tramo de 100 metros horizontales.



- b. Fase por Profundidad:** Son las variaciones en la profundidad efectiva del suelo, con respecto a la distancia hasta el material subyacente y contrastante, como rocas, napa freática permanente, gravas o piedras. Esta característica afecta el volumen del suelo para la penetración de raíces, el movimiento descendente del agua, las capacidades del suministro de los nutrientes y la retención de humedad, influyen en el manejo y uso del suelo.
- c. Fase por Salinidad Sódica:** Es el nivel de salinidad y sodicidad que muestra el suelo dentro de la sección de control del perfil. Esta fase es esencial para un manejo adecuado del suelo.
- d. Fase por Terraceo:** Son las modificaciones realizadas por el ser humano, que crean un sistema de terrazas en las superficies con pendientes pronunciadas y considerablemente pronunciadas. Estas pendientes tienen limitaciones en cuanto al uso y manejo de los suelos (GRP, 2014).

2.2.1.5 Fertilidad de los suelos

Es la capacidad para sostener el crecimiento de cultivos que principalmente depende de la materia orgánica presente, textura y el material parental del que proviene. Cuando la materia orgánica es más abundante, más fertilidad tienen los suelos, ya que los microorganismos presentes liberan nutrientes esenciales para las plantas. Un suelo más arcilloso tiende a ser más fértil, dado que posee una mayor capacidad para retener nutrientes (GLOBE, 2005).



La fertilidad del suelo depende de la cantidad de nutrientes que posee, entre ellos se encuentran fósforo (P), el nitrógeno (N), y potasio (K). La presencia de estos nutrientes puede evaluarse en cada horizonte del perfil del suelo, cuyos resultados son fundamentales para determinar si el suelo es adecuado para el desarrollo de las plantas (GLOBE, 2005).

A menudo se divide la fertilidad en química, física y biológica para su estudio específico, cuyas categorías se encuentran interrelacionadas (INIA, 2015).

- **Fertilidad química:** Es la capacidad del suelo para proveer nutrientes esenciales a los cultivos, evalúa la disponibilidad de nutrientes en el suelo a través de análisis de suelos y/o plantas a través de un proceso de diagnóstico que luego se definen estrategias de fertilización (INIA, 2015).
- **Fertilidad física:** Se refiere a la capacidad del suelo de brindar condiciones estructurales adecuadas para el sostén y crecimiento de los cultivos. Las variables que analizan la fertilidad física de suelos son los aspectos como la estructura, espacio poroso, retención hídrica, resistencia a la penetración, densidad aparente entre otras (INIA, 2015).
- **Fertilidad biológica:** Está asociado con los procesos biológicos que ocurren en el suelo y que involucran a los organismos que lo habitan en todas sus manifestaciones. Los seres vivos del suelo juegan un papel crucial en mantener los procesos que tienen lugar



en él. Aunque es el campo de la edafología menos desarrollado, ha habido avances significativos en los últimos años, especialmente en lo que respecta a estudios enzimáticos y la ecología microbiana del suelo. En este entorno, los procesos ocurren de manera compleja y con múltiples variables interrelacionadas (INIA, 2015).

2.2.2 Rizosfera y el componente biológico de los suelos

El suelo es una entidad compleja, formada por el proceso de pedogénesis, que involucra diversos agentes como, la geomorfología, la roca, el clima, los seres vivos y el tiempo. Los procesos de meteorización, que pueden ser físicos, químicos o biológicos, juegan un papel crucial en su formación. La materia orgánica del suelo, especialmente el humus o las sustancias húmicas, es fundamental en la influencia de la estructura y fertilidad química del suelo. La biota del suelo es diversa y su composición varía según el tipo de suelo y las plantas que lo habitan. Los microorganismos, como bacterias, algas, hongos, nemátodos y protozoos, son generalmente son componentes principales de la biota, también organismos como arañas, ácaros, lombrices, insectos, y moluscos (Eldor, 2015).

La rizosfera es la zona del suelo que se extiende unos milímetros desde la superficie de las raíces, lugar donde se liberan compuestos orgánicos a través de la rizo deposición, lo que desempeña un papel esencial en la composición y desarrollo de las comunidades microbianas (Balestrini et al., 2015; Marschner, 2012).



La relevancia de los microorganismos asociados a las raíces para la salud de las plantas se evidencia en los denominados suelos supresivos que se refiere a ecosistemas excepcionales donde las plantas son menos afectadas por patógenos del suelo, gracias a la acción de otros microorganismos presentes en el mismo, la rizo deposición estimula, enriquece y sostiene la comunidad de microorganismos beneficiosos (Schlatter, 2017).

Los microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y protozoos, conforman la mayor proporción de biomasa viva presente en el suelo y cumplen roles fundamentales en los ciclos biogeoquímicos. Estos organismos son responsables de procesos clave, entre ellos la descomposición de la materia orgánica y la liberación de nutrientes esenciales, como el nitrógeno y el fósforo (Bardgett, 2005). Además, algunos de los microorganismos, como los simbioses micorrízicos y las bacterias fijadoras de nitrógeno, establecen asociaciones simbióticas beneficiosas con las raíces de las plantas, promoviendo su crecimiento y salud (Smith y Read, 2008).

La biodiversidad, entendida como la "variedad de organismos vivos provenientes de cualquier entorno, ya sea terrestre, acuático o marino", abarca la diversidad genética dentro de las especies, la diversidad de organismos entre diferentes especies y la diversidad ecológica de los ecosistemas. El suelo se considera uno de los ecosistemas más complejos y diversos del planeta, ya que contiene una enorme cantidad de organismos que interactúan entre sí y desempeñan un papel esencial en los ciclos globales que sustentan la vida. De hecho, los suelos albergan la mayor concentración de especies en la naturaleza.



No obstante, gran parte de esta biodiversidad sigue siendo desconocida debido a que se encuentra bajo tierra y resulta invisible al ojo humano (FAO, 2015).

2.2.3 Agroquímicos

2.2.3.1 Plaguicidas organofosforados

Los plaguicidas organofosforados (OP) son ampliamente utilizados a nivel global y causan muchas intoxicaciones cada año en todo el mundo. Los plaguicidas, conocidos también como pesticidas, son sustancias diseñadas para controlar plagas o pestes. Surgieron para gestionar poblaciones de organismos dañinos para la, los cultivos, los frutos almacenados, salud humana y animales domésticos. Son sustancias químicas orgánicas, inorgánicas o microbiológicas en forma líquida o sólida, el cual tiene efectos tóxicos sobre ciertos organismos vivos (Bedmar, 2011).

Las principales plagas agrícolas son: insectos, plantas no cultivadas o malezas, los artrópodos y vertebrados que se alimentan de cultivos; los agentes patógenos, como hongos, virus y bacterias, que causan enfermedades en los cultivos. La magnitud de las pérdidas en la producción varía según la plaga, el tipo de cultivo y la región geográfica. Pueden ser potenciales, como las que se producirían sin medidas de protección, o reales, las que ocurren incluso con prácticas de protección en su lugar. Aunque las malezas son las que más pérdidas generan, como en el caso de los cultivos de papa. Así mismo, las enfermedades tienen una



importancia similar, mientras que, en el algodón, las plagas de animales son las más destacadas (Bedmar, 2011).

2.2.3.2 Efecto de las plaguicidas en los suelos agrícolas

El uso de las plaguicidas se propaga en el estrato atmosférico, y contamina los suelos agrícolas, animales, canales de regadío, colegios rurales, poblaciones rurales entre otros. La contaminación por la eliminación de las malezas, afectan los cultivos durante los primeros meses de la siembra por aplicaciones tóxicas de herbicidas, provocando la desaparición de especies nativas de la zona y finalmente la destrucción de insectos benéficos, alterando los ecosistemas, lo cual repercute en el clima (Puerto et al., 2014).

La presencia de los agroquímicos en los suelos se debe por el uso de insecticidas, fungicidas y herbicidas en las plantas mismos que son almacenados en un 50% del producto en el suelo. Sin embargo, la aplicación de herbicidas va directo al suelo durante la preemergencia que es antes de que emerjan las plántulas y la pre siembra. Los plaguicidas ingresan al suelo en un ecosistema dinámico y empiezan su degradación en tiempos variables, diferenciando tres etapas del proceso (Navarro y Barba, 1996):

- **Latencia**, es de corta duración, manteniendo el plaguicida a una determinada concentración.
- **Disipación**, se refiere a la rápida degradación del suelo.



- **Persistencia**, es cuando el plaguicida en el suelo presenta una degradación lenta. Sin embargo, la intensificación por desinfectar el suelo para la siembra de cultivos y evitar la incidencia de patógenos se vuelve cada vez más rutinario, provocando la destrucción de los microorganismos benéficos presentes en el suelo (Navarro y Barba, 1996).

El empleo de plaguicidas agrícolas altamente peligrosos, afecta a los ecosistemas terrestres y marinos, causando daños genéticos, alteraciones del comportamiento y por último daños celulares (García, et al., 2018). Así mismo, ocasionan diversos daños a la flora y fauna benéfica, que impactan en forma negativa al medio ambiente, sin embargo, el uso de plaguicidas con mayor residualidad afectan a la fauna benéfica mediante su desaparición, trayendo consigo el desconocimiento de parte de los agricultores en diferenciar un insecto benéfico de una plaga (Martin y Arena, 2018).

2.2.3.3 Insecticidas

Los insecticidas son una de las herramientas agrícolas asociadas con el daño al medio ambiente. Estos productos están diseñados con el fin de eliminar plagas de insectos, pero también pueden tener efectos letales o subletales en organismos no objetivos, como los recicladores de nutrientes del suelo, y depredadores de plagas, polinizadores de plantas. Además, pueden afectar los productos alimenticios que llegan a los niveles tróficos superiores. Las consecuencias ecológicas del uso de insecticidas generan



gran preocupación. Aunque otros aspectos de la agricultura moderna suelen tener un impacto ambiental más significativo (Devine et al., 2008).

El uso de insecticidas, puede tener consecuencias ambientales negativas, cuyos efectos se intensifican con el uso inadecuado, existen numerosos ejemplos de mal uso y abuso de estos productos. En casos extremos, los impactos de los insecticidas se mezclan con los problemas derivados de una gestión agrícola deficiente en general (O'Hara et al., 2000; Ataniyazova et al., 2001). La contaminación agrícola masiva afecta al ecosistema en su conjunto, se cree que los efectos sobre la ecología humana han sido devastadores (Jensen et al., 1997; Zetterström, 1999).

a. Cypermethrin

La Cipermetrina o Cypermethrin es un piretroide sintético, cuyo nombre es Carboxilato de RS-9-alfa-ciano-3-fenoxibenzil (1RS) cis-trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil-ciclopropano. Afecta principalmente al sistema nervioso de vertebrados e invertebrados, actuando como veneno tanto de contacto como de ingestión. Este compuesto inhibe las enzimas ATPasa, que son cruciales para el transporte activo de iones en contra de un gradiente de concentración (Damián, 2009).

Esta inhibición es particularmente perjudicial para peces e insectos acuáticos, ya que las ATPasas son esenciales para el transporte activo y el intercambio de oxígeno. La alteración en la función de estas enzimas puede afectar el movimiento y el equilibrio de iones, lo que perturba las superficies respiratorias. La Cipermetrina es intrínsecamente más tóxica



para los organismos acuáticos en comparación con otros compuestos (Damián, 2009).

A nivel fisiológico, la Cipermetrina altera el funcionamiento normal del sistema nervioso central al prolongar la apertura de los canales de sodio (Na) dependientes del voltaje en los axones, lo que permite un flujo excesivo de Na hacia el interior de la célula, interrumpiendo así la señalización eléctrica y provocando la muerte del insecto (Soderlund, 2010). Sin embargo, estudios recientes han reportado que este insecticida puede inducir resistencia en las plagas (Zhong et al., 2013). Funciona como una neurotoxina de acción rápida en los insectos, siendo efectiva contra diversas plagas que afectan a los cultivos y ectoparásitos en animales domésticos (World Health Organization, 1992).

Los efectos del uso prolongado de piretroides como la cipermetrina son aun parcialmente conocidos. En estudios con ratones tratados con Cipermetrina durante doce semanas por vía oral se observó daño hepático y renal a consecuencia del estrés oxidante, que es debido al significativo aumento de los valores de transaminasas séricas (GOT y GPT), asimismo disminuye el recuento de glóbulos blancos, eritrocitos y hemoglobina. También ocasiona daño estructural severo en el hígado y los riñones, acompañado de una pérdida de peso en estos órganos (Dahamna et al., 2011).

b. Chlorpirifos

El Clorpirifos es un insecticida organofosforado ampliamente utilizado tanto en el hogar como en la agricultura. En las viviendas, se



emplea para controlar cucarachas, pulgas y termitas, y también se encuentra en algunos collares antipulgas para mascotas. En el ámbito agrícola, se utiliza para el control de garrapatas en ganado y se aplica a los cultivos para combatir plagas (ATSDR, 1997).

El Clorpirifos es un sólido blanco cristalino con un fuerte olor y no se mezcla bien con agua, por lo que generalmente se combina con líquidos aceitosos antes de su aplicación en cultivos o animales. También puede ser aplicado a los cultivos en forma de microcápsulas. Este compuesto entra al medio ambiente mediante su aplicación directa, volatilización, derrames y eliminación de desechos. Cuando se aplica al suelo, el Clorpirifos tiende a permanecer en el área debido a su adherencia a las partículas del suelo, lo que reduce la probabilidad de que se desprenda y contamine las fuentes de aguas locales. Si llega a las aguas naturales, se encuentra en bajas concentraciones y tiende a evaporarse rápidamente debido a su mala solubilidad en agua. Los Clorpirifos se dispersan en el ambiente mediante la volatilización el cual se descompone por medio de la luz solar, bacterias y otros procesos químicos (ATSDR, 1997).

El Clorpirifos se degrada rápidamente en el entorno, bajos niveles de esta sustancia pueden persistir durante mucho tiempo tras su aplicación, tanto en interiores como en exteriores. Asimismo, ventilar adecuadamente las áreas tratadas con Clorpirifos ayuda a reducir rápidamente sus niveles en el aire. En el campo, el riesgo de exposición es mayor inmediatamente después de la aplicación, cuando las concentraciones son más altas. Sin embargo, dado que el Clorpirifos se degrada rápidamente y se adhiere al



suelo y a las plantas, sin embargo, se sugiere esperar 24 horas antes de entrar a los campos tratados. Este compuesto es peligroso por lo que existe riesgo durante la preparación del producto, por lo tanto, solo personas autorizadas realicen la aplicación y que se mantenga a las personas no protegidas alejadas del área tratada ya que puede afectar negativamente su salud. El Clorpirifos también puede encontrarse en sitios de desechos peligrosos, donde la exposición puede ser más alta que en su uso comercial o doméstico (ATSDR, 1997).

2.2.4 Tolerancia bacteriana a los insecticidas

La tolerancia es la capacidad de las bacterias para sobrevivir, pero no crecer, debido a la disminución significativa del número de bacterias causado por las concentraciones de una dosis letal de cierto compuesto (Bourgeois et al., 2007). Las bacterias poseen la capacidad natural heredable para poder sobrevivir y reproducirse frente a la presencia de un principio activo como son los insecticidas. La aplicación de estos productos químicos en los sistemas de producción origina una acción al microbiota del suelo, perturbando poblaciones microbianas de interés biológico expuestas, a nivel bioquímico y disminuyen su actividad biofertilizante, y por tanto el crecimiento vegetal (Paoletti, 1999). Las bacterias que degradan los plaguicidas son *Bacillus* sp, *Azotobacter* sp, *Pseudomonas* sp, *Agrobacterium* sp, *Flavobacterium* sp, *Clostridium* sp, entre otras bacterias, estos se encargan de metabolizar dichas moléculas o las usan como nutriente y fuente de energía (Madigan et al., 2004).

Los microorganismos, son los responsables de degradar a los compuestos xenobióticos en especial los plaguicidas (Ou et al., 2001), debiéndose al uso de



dichos químicos en los cultivos agrícolas, por tal motivo han desarrollado mecanismos de adaptación genética, como la síntesis de enzimas que hidroxilan y oxidan a los plaguicidas, son utilizados como única fuente de carbono y/o nitrógeno, azufre o fósforo, mineralizándolos logrando la detoxificación de los plaguicidas por actividad metabólica (Desaint et al., 2003).

Las bacterias tienen la función de biodegradación y transformación de los plaguicidas en el suelo y depende de la disponibilidad, movilidad y toxicidad del plaguicida, asimismo, las propiedades fisicoquímicas del suelo y del plaguicida, entre otros factores medioambientales (Racke, 1990). El género *Azotobacter* es una de las bacterias más estudiadas en el ámbito de la agricultura ya que posee la capacidad de biodegradabilidad, en especial para la oxidación de compuestos fenólicos sustituidos; son de importancia ya que aumentan su actividad biológica en suelos agrícolas que poseen un alto contenido en sustancias fenólicas, y contribuyen a la biotransformación de este tipo de residuos. En contexto las bacterias diazótrofos son considerados como ideales para los procesos de descontaminación de suelos agrícolas con sustancias xenobióticos (González y Lluich, 1992).

2.2.5 *Azotobacter* sp

2.2.5.1 Biología

Azotobacter es un género perteneciente al dominio de las γ -proteobacterias y están emparentadas filogenéticamente con el género de las *Pseudomonas*. Dentro del género *Azotobacter* se encuentran clasificadas las siguientes especies: *Azotobacter chroococcum*,



Azotobacter armeniacus, *Azotobacter beijerinckii*, *Azotobacter nigricans*, *Azotobacter paspali*, *Azotobacter salinestris* y *Azotobacter vinelandii* (Kennedy et al., 2005).

Los biofertilizantes son microorganismos que incrementan la productividad y salud de los cultivos, asimismo, promueven la fijación de nitrógeno, la producción de sideróforos, y la solubilización de fosfatos y fitohormonas. Dentro de los diversos microorganismos que ayudan a fertilizar el suelo, se destaca el género *Azotobacter* (Zavala et al., 2020).

También, los biofertilizantes son combinaciones de microorganismos vivos, como hongos, algas y bacterias, que cumplen la función de mejorar la disponibilidad de nutrientes y fomentan el crecimiento de las plantas. Estos productos representan un avance significativo en la sostenibilidad de los cultivos y en la salud del suelo. Estudios recientes han mostrado que los biofertilizantes permiten el aprovechamiento eficiente de los nutrientes en comparación con los fertilizantes químicos. No causan contaminación, debido a que se componen de metabolitos y microorganismos beneficiosos para las plantas, asimismo, promueven el mantenimiento natural del suelo, además de tener un menor impacto económico en la agricultura. El mercado global de biofertilizantes ha crecido progresivamente entre los agricultores, alcanzando varios millones de dólares anuales debido a sus beneficios y aceptación en el sector agrícola (Galindo et al., 2023).

Los biofertilizantes mejoran la fertilidad del suelo y la salud de las plantas, aportando nutrientes, promoviendo el crecimiento y



proporcionando protección contra enfermedades (Nosheen et al., 2021). Por otro lado, es importante conocer los microorganismos presentes, los efectos que tienen sobre las plantas y los nutrientes que requieren, ya que, al ser liberados sobre un cultivo agrícola, son considerados como biofertilizantes (Kumar et al., 2022).

Azotobacter sp. posee características pleomórficas, su tamaño oscila entre 1.5 y 2.0 μm , su forma varía desde bacilos hasta cocos, pueden verse como células individuales, en pares o en agregados irregulares. Se reproducen por medio de fisión binaria y su desplazamiento es mediante flagelos peritricos (Espín, 2000). Aunque no producen esporas, desarrollan quistes resistentes a fármacos y por lo general a entornos adversos (Lin y Sadoff, 1968). Son catalasa positiva, aeróbicas y quimioheterotróficas, ya que utilizan sales inorgánicas, azúcares y alcoholes para crecer. Prosperan en condiciones bajas de oxígeno, pH de 7.0 – 7.5 y una temperatura de 30 °C (Mayea et al., 1998). Poseen la capacidad de fijar hasta 10 mg de nitrógeno por g de glucosa metabolizada, requiriendo molibdeno, utilizando sales de nitrato, aminoácidos y amonio como fuentes de nitrógeno (Lin y Sadoff, 1968). Algunas especies producen alginatos, poli- α -hidroxibutirato (Horan et al., 1983) y hormonas vegetales como auxinas, giberelinas, citoquininas y pigmentos (González y López, 1986).

2.2.5.2 Clasificación Taxonómica

Dominio:	Bacteria
Phylum:	Proteobacteria
Clase:	Gamma proteobacteria
Orden:	Pseudomonadales
Familia:	Azotobacteraceae
Género:	Azotobacter
Especies:	<i>Azotobacter vinelandii</i> <i>Azotobacter chroococcum</i> (Ramos, 1992)

2.2.5.3 Importancia e identificación de *Azotobacter* sp

Las bacterias del género *Azotobacter* sp desempeñan un papel importante en el proceso natural de fijación de nitrógeno y ayudan a mitigar la deficiencia de este nutriente. Esto mejora la calidad de las cosechas y contribuye a la regeneración gradual del nitrógeno orgánico en los suelos (Tejera et al., 2008), pero debido a la deficiencia de materia orgánica en los suelos su población no es muy abundante siendo así un limitante para utilizarlo a gran escala, por lo que es necesario realizar cultivos en el laboratorio y posteriormente utilizarlo en el campo (Aguado y Moreno, 2018).

Para su identificación preliminar se utilizan pruebas a nivel fenotípicas como morfología colonial, tinción de gram y pruebas bioquímicas (Torres et al., 2000). Algunas especies del género *Azotobacter* sp. son notables por su capacidad para fijar nitrógeno y producir dos

polímeros industriales: el poliéster polibeta hidroxibutirato (PHB) y el alginato que permite un control más preciso sobre la calidad del polímero (García, 2019).

2.2.6 Biorremediación bacteriana frente a los insecticidas

Es una alternativa para la transformación de los plaguicidas en compuestos más simples o poco tóxicos, utilizando el potencial metabólico de los microorganismos principalmente hongos y bacterias (Álvarez et al., 2017). Que tienen la capacidad de degradar pesticidas, y pueden ser controlados para lograr la estimulación del crecimiento, buscando la obtención de biomasa viable con actividad metabólica específica para lograr la biodegradación de plaguicidas (Lujan, 2019).

En países como México y Polonia se han demostrado que la biorremediación de pesticidas organofosforados por medio de microorganismos aislados de suelos agrícolas ha tenido grandes resultados, presentado degradaciones de hasta un 98% (Vidali, 2001). Los microorganismos en ambientes que contienen compuestos xenobióticos desarrollan con el tiempo la habilidad de descomponerlos, a pesar de que las rutas metabólicas se encuentran limitadas debido a la baja velocidad relativa. Para aumentar la actividad catalítica y la especificidad de las enzimas en estos microorganismos, actualmente se aplican técnicas como la mutagénesis dirigida o la PCR de error propenso (Singh et al., 2008).

Los metabolitos producto de las reacciones de la degradación de un contaminante en ocasiones son tóxicos o presentan resistencia a la degradación.



Para mejorar estos procesos de degradación, se han utilizado microorganismos que siguen las rutas de degradación requerida (Singh et al., 2008). Es importante comprender la fisiología y genética de las poblaciones involucradas en los procesos de biorremediación, ya que es útil para evaluar y optimizar la descontaminación (Watanabe, 2001). El conocimiento de los cambios en las comunidades microbianas durante la biorremediación es escaso, debido a que muchas de las bacterias ambientales no pueden ser cultivadas por técnicas convencionales de laboratorio (Iwamoto y Nasu, 2001).

Los avances recientes en las técnicas de biología molecular han facilitado la monitorización e identificación de bacterias y genes catabólicos implicados en la descomposición de los xenobióticos. Las técnicas que se realizan son, la PCR de rango largo, en tiempo real y la de transcripción reversa, la hibridación Southern blot. Éstas muestran los microorganismos relevantes catabólicamente y los genes funcionales presentes en un sistema contaminado (Marzorati et al., 2010). Las técnicas de biología molecular tales como hibridación in situ fluorescente (FISH), con sondas de oligonucleótidos de RNA ribosomal, son ampliamente utilizadas en estudios de ecología microbiana, y permiten evaluar la expresión de genes involucrados en la biorremediación mediante cuantificación de niveles de mRNA, que proveen mejor información que los análisis de secuencias 16S, ya que debe existir una correlación positiva entre el potencial de degradación del contaminante y la abundancia relativa de estos genes (Lovley, 2003).

2.2.7 Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en $\mu\text{g/ml}$) que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de haber sido incubado durante 24 horas a una temperatura de 37°C . La CMI evalúa la susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado (Andrews, 1999).

Los métodos que más se realizan son los de dilución, que es la exposición del microorganismo a distintas concentraciones seriadas de un antimicrobiano, observando en las diluciones el crecimiento bacteriano. Es una medida in vitro cuyo valor es de la dilución y depende de cada antibiótico y microorganismo. En la práctica, una bacteria se considera sensible cuando las concentraciones plasmáticas (sangre) del antibiótico son cuatro veces superiores a la CMI (Martínez y Porras, 2021).

Se indica la CMI es interpretado como: S (Sensible), I (Intermedia) o R (Resistente), seguido de la CMI en $\mu\text{g/ml}$.

- **Sensible:** Indica que el microorganismo se encuentra inhibido a la concentración sérica del fármaco
- **Intermedia:** Indica que el crecimiento del microorganismo se debe a la inhibición de la dosis máxima recomendada.
- **Resistente:** significa que el microorganismo es resistente a los niveles séricos del fármaco que normalmente alcanzan (IDEXX, 2023).



2.2.8 Concentración mínima inhibitoria (CMB)

La Concentración Mínima Bactericida (CMB), elimina más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación que generalmente es de 24 horas equivalente a una disminución de 3 logaritmos decimales. En ocasiones se hace necesario determinar la actividad bactericida de un agente antimicrobiano, como es el caso de endocarditis, osteomielitis, meningitis o infecciones en pacientes inmunosuprimidos, ya que existe la necesidad de establecer métodos de laboratorio que definan la actividad de estos agentes (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999).

El recuento se realiza habitualmente mediante técnicas de cultivo. Para calcular la CMB se emplean métodos en los que bacteria y antimicrobiano se enfrentan en un caldo, de macro o microdilución que se utilizan para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (Rivas,2021).

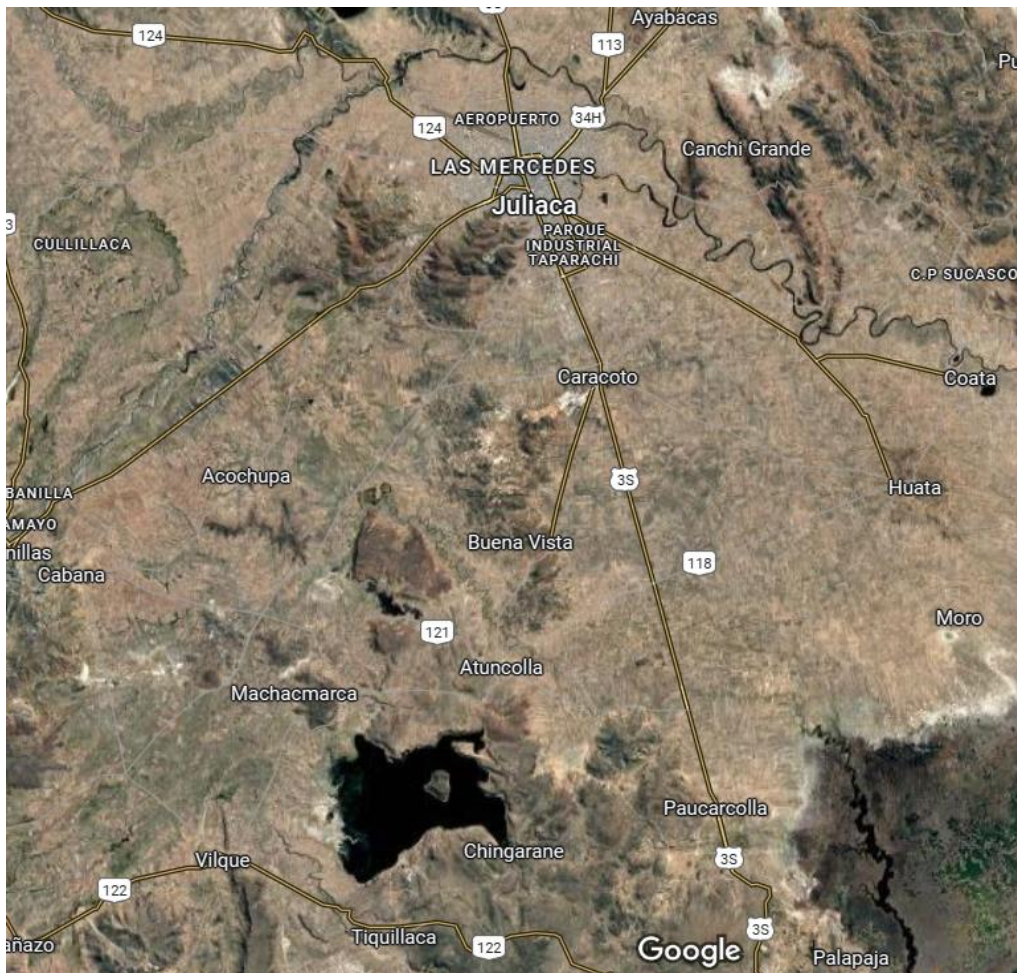
CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

Figura 1

Ubicación de las comunidades de Collana Chillora (Z1), San Francisco de Buena Vista (Z2) y Canchi Huañingora (Z3), evaluadas en el distrito de Caracoto, provincia de San Román, región Puno.



Fuente: Google maps (2024).

La investigación se realizó en las comunidades de Collana Chillora, ubicada en las coordenadas 15°41'05.7" latitud Sur y 70°04'51.4" longitud Oeste, San Francisco de



Buena Vista, ubicada en las coordenadas 15°37'52.6" latitud Sur y 70°07'34.5" longitud Oeste y Canchi Huañingora ubicado en las coordenadas 15°33'52.3" latitud Sur y 70°03'57.7" longitud Oeste, del distrito de Caracoto y provincia de San Román, región Puno (Figura 1), donde la población se dedica al cultivo de habas, papa, papalisa, arvejas, entre otros, asimismo se dedican a la crianza de ovinos, vacunos, porcinos, entre otros. Los análisis de los suelos y los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología, del Programa de Estudios Microbiología y Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación fue experimental, en razón de que las concentraciones de los insecticidas fueron manipuladas. Para determinar la concentración mínima inhibitoria Cypermethrin se diluyó en las concentraciones de 5 %, 6 %, 7 % y 8 %; mientras que para Chlorpyrifos las concentraciones fueron 0.10 %, 0.12 %, 0.14 % y 0.16 %, que son las concentraciones utilizadas regularmente en campo y recomendadas por el fabricante. Por otro lado, para determinar las concentraciones mínimas bactericidas, Cypermethrin se trabajó en concentraciones de 7 %, 8 %, 9 % y 10 %; mientras que para Chlorpyrifos las concentraciones fueron 0.12 %, 0.14 %, 0.16 % y 0.18 %.

El trabajo de investigación fue de tipo descriptivo (Hernández et al., 2014) en razón de que se determinaron y explicaron las razones del porque *Azotobacter* sp, obtuvieron dichas CMI y CMBs frente a los dos insecticidas.

3.3 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

El número de muestras fue determinado por los investigadores, en razón de que se demostró si *Azotobacter* sp aisladas de los campos de cultivo del distrito de Caracoto

son afectadas en su crecimiento y muerte a causa de los insecticidas aplicados normalmente en la temporada agrícola (Condori, 2020). Como se observa en la Tabla 1, se realizó un total de 60 muestreos, 15 frente a cada concentración de insecticida y 20 por cada zona comunidad.

Tabla 1

Distribución de número de muestras por comunidades y concentraciones.

Concentración	Comunidades de muestreo			Total
	Collana Chillora	San Francisco de Buena Vista	Canchi Huañingora	
1	5	5	5	15
2	5	5	5	15
3	5	5	5	15
4	5	5	5	15
Total	20	20	20	60

Fuente: Elaboración propia.

3.4 DETERMINACIÓN DE LA CMI DE LOS INSECTICIDAS SOBRE

Azotobacter sp

3.4.1 Colecta de suelos

Se realizó en campos de cultivo de las comunidades de Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora del distrito de Caracoto y provincia de San Román, región Puno. Las muestras de tierra fueron colectadas en 5 puntos al azar distanciadas por 10 m entre puntos, a 10 cm de profundidad mediante un pico, primeramente, se eliminó todo residuo superficial y se colocó en bolsas de polietileno debidamente rotulados (Mireles et al., 2018), a continuación, fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología Clínica, el cual cuenta con los equipos para el aislamiento microbiano, los reactivos, material de vidrio y materiales.



3.4.2 Aislamiento de microorganismos de suelo

Se pesó 1 g de tierra tamizada y se colocó en 100 ml del medio mineral sin nitrógeno. El medio mineral fue preparado con 5 g de manitol, 5 g de K_2HPO_4 , 0.2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g de NaCl, 0.1 g de K_2SO_4 , 5 g de $CaCO_3$, 15 g de agar y 1 litro de agua destilada, ajustado a un pH de 7.0 (Rao, 1999).

Se dejó incubar por 24 horas a 30 °C. Las colonias que desarrollaron en el medio de cultivo, luego fueron transferidas a placas Petri con agar nutritivo por 24 horas, hasta obtener cultivos axénicos, estas fueron mantenidas en tubos de agar inclinado en refrigeración hasta su uso en refrigeración (Mireles et al., 2018).

Los aislamientos de *Azotobacter* sp fueron identificadas y codificadas de los tres campos de cultivo, la CMI se determinó mediante la siguiente metodología:

3.4.3 Pruebas de tolerancia mediante la CMI

a. **Método:** Microdilución en tubo.

b. **Fundamento:**

El objetivo del método es determinar la mínima concentración antimicrobiana (en la investigación serán los insecticidas) con capacidad de inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana, con el fin de compararla con la que alcanza en una determinada localización, se calcula empleando procedimientos donde la bacteria y el antimicrobiano se enfrentan en un caldo. Se emplea el procedimiento de microdilución en tubo, lo que se pretende es comprobar en los tubos o pocillos sin crecimiento qué concentración de antimicrobianos ha inhibido el crecimiento del aislado bacteriano estudiado (Picazo, 2000).



c. Procedimiento:

A cada aislamiento puro se realizó una prueba de tolerancia de crecimiento tal como lo recomiendan Guerrero y Jiménez (2001), mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) que fue determinado mediante la técnica de microdilución en tubo a partir de una suspensión bacteriana de *Azotobacter* sp, estándar 0.5 MacFarland equivalente a una concentración de 1.5×10^8 UFC/ml.

Para hallar la CMI de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos se utilizó tubos de vidrio tomando como referencia la concentración mínima de cada insecticida, los cuales presentaron controles negativos y positivos, para ello se colocó 1 ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI) a todos los tubos exceptuando el primer tubo, luego se adicionó 1 ml del insecticida, en el primer y segundo tubo a partir de los cuales se prepararon las concentraciones seriadas en concentraciones de 5 %, 6 %, 7 % y 8 % para Cypermethrin y 0.10 %, 0.12 %, 0.14 % y 0.16 % para Chlorporyfos (Tabla 1).

Finalmente se adicionó 1 ml de la dilución bacteriana equivalente a 1.5×10^8 UFC/ml al estándar 0.5 de MacFarland y para el control positivo se le adicionó la bacteria más el BHI. Los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 horas (Koneman, 1999).

Tabla 1

*Concentraciones seriadas para la determinación de la CMI de los insecticidas en bacterias del género *Azotobacter* sp.*

Insecticida	Concentración experimental (%)				
	5	6	7	8	Control positivo
Cypermethrin	5	6	7	8	Control positivo
Chlorpyrifos	0.10	0.12	0.14	0.16	Control positivo

Fuente: Elaboración propia.

La CMI del insecticida sobre *Azotobacter* sp, fue aquel tubo que no presentó que no presentó turbidez, en razón de que la turbidez indicó crecimiento bacteriano.

3.4.4 Variables analizadas

- **Variable independiente:** concentraciones de insecticidas.
- **Variable dependiente:** CMI sobre bacterias *Azotobacter* sp.

3.5 DETERMINACIÓN DE LA CMB DE LOS INSECTICIDAS SOBRE *Azotobacter* sp

De todas las cepas de *Azotobacter* sp previamente aisladas, identificadas y codificadas de los tres campos de cultivo, se determinó la CMB, mediante la siguiente metodología:

3.5.1 Prueba para la determinación de la CMB

- Método:** Microdilución en placa.
- Fundamento:**

El objetivo del método es determinar la mínima concentración antimicrobiana (en la investigación serán los insecticidas) con capacidad de



producir la muerte de una cepa bacteriana, con el fin de compararla con la que alcanza en una determinada localización, se calcula empleando procedimientos donde la bacteria y el antimicrobiano se enfrentan en un medio de cultivo sólido. Se obtiene empleando el procedimiento de microdilución en placa. Lo que se pretendió comprobar en las placas sin crecimiento, la concentración antimicrobiana que eliminó al aislado bacteriano estudiado (Picazo, 2000).

c. Procedimiento:

De los tubos anteriores donde se determinó la CMI, aquellos que presentarán turbidez fueron descartadas. A continuación, los tubos que no presentaron turbidez pasaron a ser utilizados para la determinación de la CMB, en ese sentido se prepararon placas Petri de agar Mueller Hinton con las concentraciones de insecticidas en concentraciones de 7 %, 8 %, 9 % y 10 % para Cypermectrin y 0.12 %, 0.14 %, 0.16 % y 0.18 % para Chlorpyrifos. Seguidamente se realizó el cultivo de las concentraciones con carencia de turbidez sobre los medios de cultivo de agar Mueller Hinton en forma de estrías con ayuda del asa de siembra en anillo previamente esterilizado a la llama del mechero, luego fueron incubado en una estufa microbiológica a 37 °C por 24 horas. La CMB fue aquella placa de Petri con agar Mueller Hinton con una determinada concentración que no presentó crecimiento bacteriano (Julca, 2015).

3.5.2 Variables analizadas

Variable independiente: Concentración de cada insecticida.

Variable dependiente: CMB sobre bacterias *Azotobacter* sp.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE LOS INSECTICIDAS SOBRE *Azotobacter* sp

Tabla 2

Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Cypermethrin frente a Azotobacter sp.

Comunidad	Concentración de Cypermethrin	Crecimiento de <i>Azotobacter</i> sp					CMI
		R1	R2	R3	R4	R5	
Collana Chillora	5 %	+	+	+	+	+	
	6 %	+	+	+	+	+	
	7 %	+	-	+	-	+	2R: 7 %
	8 %	-	-	-	-	-	5R: 8 %
San Francisco de Buena Vista	5 %	+	+	+	+	+	
	6 %	+	+	+	+	+	
	7 %	-	-	+	+	+	2R: 7 %
	8 %	-	-	-	-	-	5R: 8 %
Canchi Huañingora	5 %	+	+	+	+	+	
	6 %	+	+	+	+	+	
	7 %	+	+	+	+	+	
	8 %	-	-	-	-	-	5R: 8 %

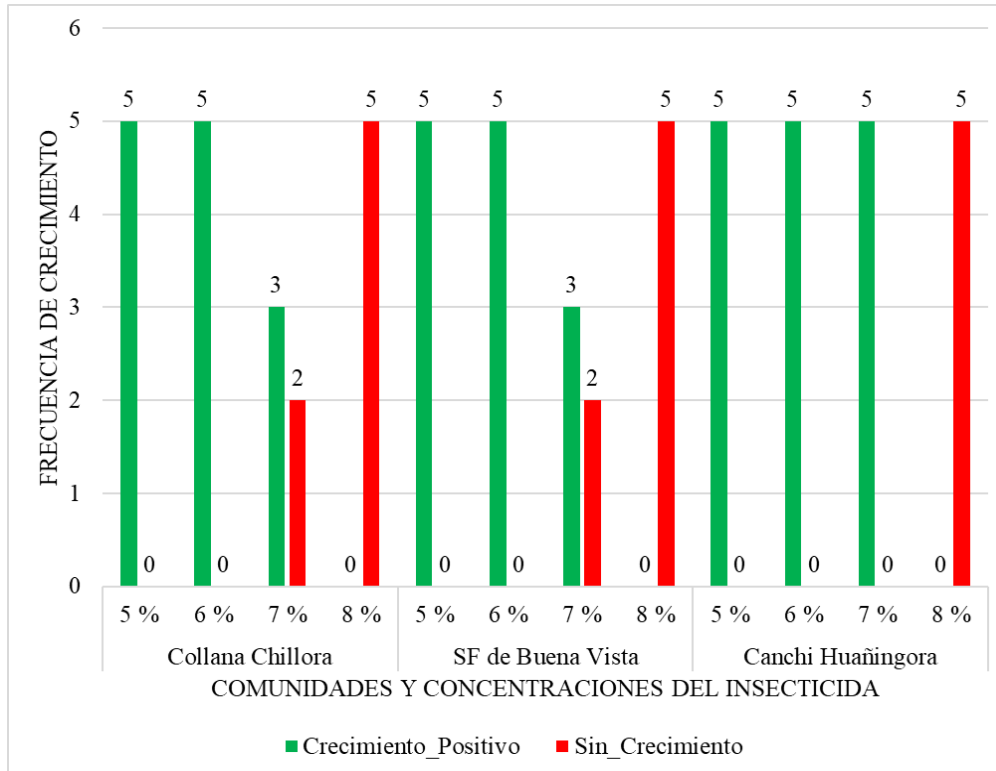
Nota: R= repetición; + = crecimiento bacteriano; - = sin crecimiento bacteriano.

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 2, se observa la concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Cypermethrin en la bacteria biofertilizante *Azotobacter* sp. En bacterias aisladas de las comunidades de Collana Chillora y San Francisco de Buena Vista, dos resultaron con una CMI de 7 % de Cypermethrin, mientras que los restantes aislamientos resultaron con una CMI del 8 % del insecticida. Mientras tanto que en las bacterias aisladas de la comunidad de Canchi Huañingora, todas resultaron con una CMI del 8 % (Figura 2).

Figura 2

Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Cypermethrin en Azotobacter sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.



Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 3, se visualiza la concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Chlorpyrifos en *Azotobacter* sp. De manera similar que, con el anterior insecticida, en bacterias aisladas de las comunidades de Canchi Huañingora y San Francisco de Buena Vista, dos resultaron con una CMI de 0.12 % de Chlorpyrifos, mientras que los restantes aislamientos resultaron con una CMI del 0.14 % del insecticida. Mientras tanto que en las bacterias aisladas de la comunidad de Collana Chillora, todas resultaron con una CMI del 0.14 %.

Tabla 3

Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Chlorpyrifos frente a Azotobacter sp.

Comunidad	Concentración de Chlorpyrifos	Crecimiento de <i>Azotobacter</i> sp					CMI
		R1	R2	R3	R4	R5	
Collana Chillora	0.10 %	+	+	+	+	+	5R: 0.14 %
	0.12 %	+	+	+	+	+	
	0.14%	-	-	-	-	-	
	0.16 %	-	-	-	-	-	
San Francisco de Buena Vista	0.10 %	+	+	+	+	+	2R: 0.12 % 5R: 0.14 %
	0.12 %	+	+	-	-	+	
	0.14%	-	-	-	-	-	
Canchi Huañingora	0.10 %	+	+	+	+	+	1R: 0.12 % 5R: 0.14 %
	0.12 %	+	+	+	-	+	
	0.14%	-	-	-	-	-	
	0.16 %	-	-	-	-	-	

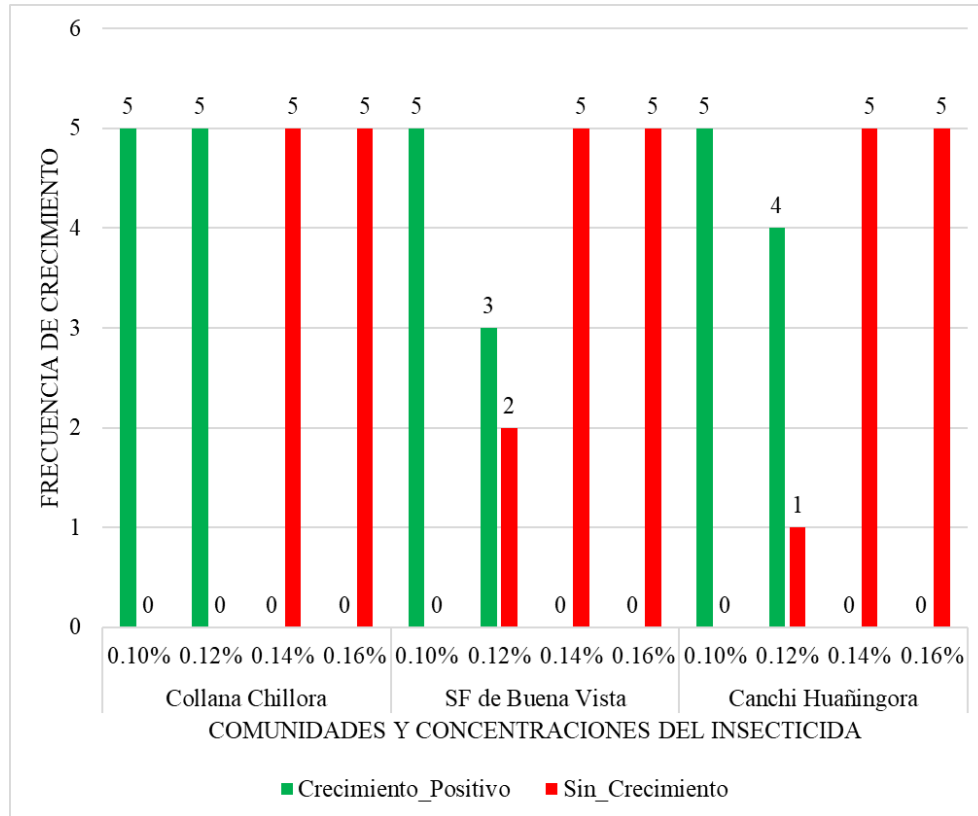
Nota: R es repetición; + indicó que hubo crecimiento bacteriano; – indicó sin crecimiento bacteriano.

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos para la CMI de Chlorpyrifos sobre *Azotobacter* sp, fueron similares a los reportados por Santander et al. (2024), quienes, en suelos del Departamento Central (Paraguay), determinaron que *Bacillus subtilis* mostró una disminución de la biomasa bacteriana con el incremento de las concentraciones del insecticida piretroide Cypermethrin. Los aislamientos de *Azotobacter* sp presentaron mayoritariamente una CMI del insecticida al 0.14 % de concentración, salvo en 2 aislamientos de las comunidades de Canchi Huañingora y San Francisco de Buena Vista, que mostraron una CMI al 0.12 % de concentración. Al respecto, Uzma et al. (2023), señalan que las bacterias poseen una capacidad intrínseca de tolerancia a ciertas concentraciones de Cypermethrin, probablemente debido a su capacidad de adaptación o degradación del insecticida, como lo reportaron en *Bacillus subtilis* (Figura 3).

Figura 3

Concentración mínima inhibitoria (CMI) del insecticida Chlorpyrifos en Azotobacter sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.



Fuente: Elaboración propia.

Los microorganismos, entre ellos las bacterias, desempeñan un rol crucial en la dinámica y salud del ecosistema terrestre. Sin embargo, al ser expuestos a los pesticidas aplicados en los campos de cultivo para el control de plagas, pueden experimentar efectos significativos en la microbiota del suelo (Santander et al., 2024). En esta investigación se determinaron ciertos aislamientos más sensibles que otros con CMI ligeramente diferentes. Esto podría deberse a que microorganismos de diferentes especies dentro de un mismo género revelan respuestas diferenciadas a las concentraciones del insecticida (Bhatt et al., 2019). Un ejemplo de esto es *Bacillus cereus* GW-01, que tiene la capacidad de tolerar al insecticida Cypermecthin e incluso de degradarlo, ya que produce la enzima



esterasa, que convierte el ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA) en fenol y ácido benzoico (Zhao et al., 2022).

La CMI de Cypermethrin sobre *Azotobacter* sp fue de 7 % a 8 % de concentración, mientras que con Chlorpyrifos fue de 0.12 % y 0.14 %. Según Xiao et al. (2020), a medida que disminuye la concentración del insecticida y se observa mayor crecimiento bacteriano, se sugiere la capacidad de los microorganismos en adaptarse o degradar al químico. Esto se evidenció en *Bacillus subtilis* BSF01, que biosintetiza la enzima carboxilesterasa. En esta bacteria, dicha enzima cumple un rol sinérgico en la degradación del insecticida, regulado por el quorum sensing mediante el factor de transcripción *ComA*. Por lo tanto, es fundamental el reconocer en los microorganismos su extraordinaria capacidad de biodegradación incluso a altas concentraciones de contaminantes. La mayor susceptibilidad observada en algunos aislamientos podría deberse a la actividad enzimática reducida y a limitaciones en procesos bioquímicos esenciales (Zhao et al., 2022).

Azotobacter sp fue aislada de suelos de comunidades de la región Puno. Estas bacterias biofertilizantes tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, producir fitohormonas y sideróforos, entre otras propiedades. Al igual que otras especies bacterias terrestres, como *Pseudomonas*, *Ochrobactrum haematophilum* y *Rhodococcus*, se destacan por su importancia ecológica, ya que toleran bajas concentraciones de insecticidas y son potenciales microorganismos biodegradadores de diversos contaminantes, incluyendo insecticidas. Un ejemplo es *Bacillus subtilis* (Akbar et al., 2015); sin embargo, la aplicación indiscriminada de agroquímicos, como pesticidas y herbicidas, en la agricultura de la región Puno podría alterar el crecimiento bacteriano,



con graves consecuencias para la dinámica del ecosistema del suelo (Santander et al., 2024).

Por esta razón, los resultados sugieren que las autoridades competentes deberían desarrollar proyectos para la gestión de plaguicidas, con el objetivo de minimizar su impacto ambiental, especialmente en los microorganismos, dado el rol crucial que desempeñan en el suelo. Los efectos negativos reportados en la inhibición del crecimiento de *Azotobacter* sp por el efecto de la Cypermethrin en la presente investigación resaltan la necesidad de generar o implementar estrategias alternativas y ecológicas para controlar la presencia de este insecticida en los suelos del altiplano. Esto es fundamental, ya que su uso no solo impacta a las plagas insectiles, sino también a otras formas de vida, como las bacterias del suelo (Santander et al., 2024).

Luego de analizar los resultados, se acepta la hipótesis planteada, que afirmaba “La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos sobre bacterias *Azotobacter* sp será menor a 10% de concentración”. En la investigación se obtuvieron valores inferiores a lo previsto en el proyecto de investigación.

En la investigación de manera experimental, se utilizaron los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos, los cuales son comúnmente comercializados en tiendas de agroquímicos para el control de insectos plaga en los cultivos. A pesar de las recomendaciones de dosificación proporcionadas por los fabricantes, estos mismos señalan que, si el daño causado por el insecto es moderado a severo, se debe incrementar la dosis. Esta práctica podría generar numerosos problemas, no solo en las plagas, sino también en insectos benéficos y, en consecuencia, en otras formas de vida del suelo, como microorganismos esenciales, incluidos bacterias y hongos, que desempeñan un papel

crucial en la agricultura. Por lo tanto, los resultados de esta investigación verifican el daño que los insecticidas pueden causar en los microorganismos benéficos del suelo. Esto resalta la necesidad de implementar restricciones en la venta y aplicación de estos productos, así como alternativas de gestión para mitigar su impacto ambiental.

4.2 CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DE LOS INSECTICIDAS SOBRE *Azotobacter* sp

Tabla 4

*Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Cypermethrin frente a *Azotobacter* sp.*

Comunidad	Concentración de Cypermethrin	Crecimiento de <i>Azotobacter</i> sp					CMI
		R1	R2	R3	R4	R5	
Collana Chillora	7 %	+	+	+	+	+	5R: 9 %
	8 %	+	+	+	+	+	
	9 %	-	-	-	-	-	
	10 %	-	-	-	-	-	
San Francisco de Buena Vista	7 %	+	+	+	+	+	5R: 9 %
	8 %	+	+	+	+	+	
	9 %	-	-	-	-	-	
	10 %	-	-	-	-	-	
Canchi Huañingora	7 %	+	+	+	+	+	5R: 9 %
	8 %	+	+	+	+	+	
	9 %	-	-	-	-	-	
	10 %	-	-	-	-	-	

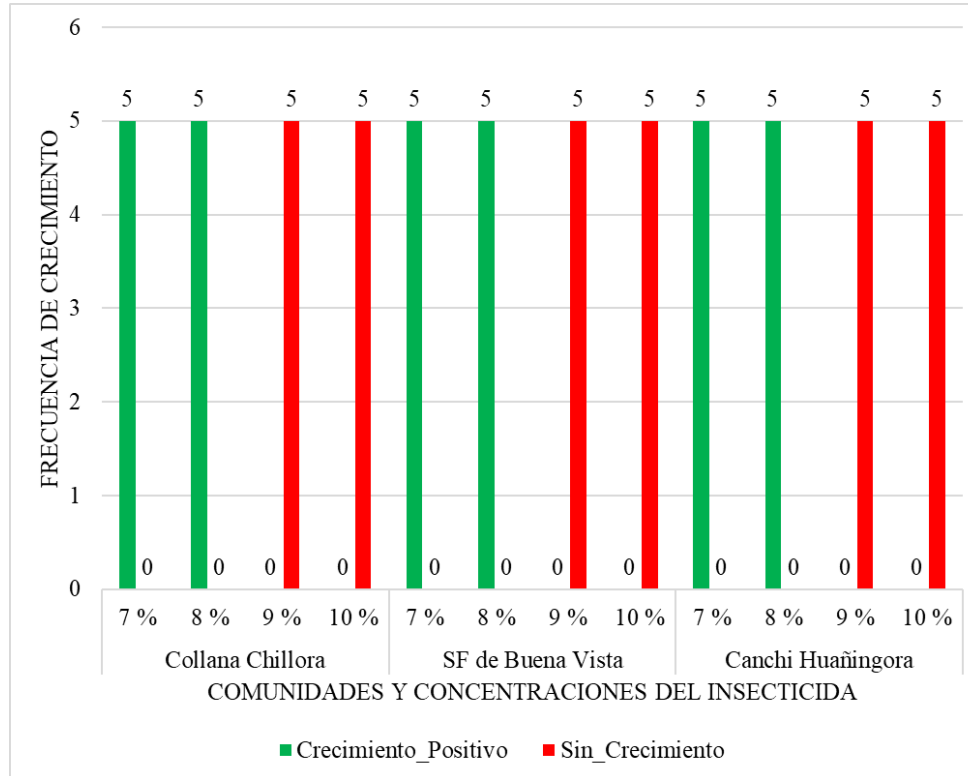
Donde: R es repetición; + indicó que hubo crecimiento bacteriano; – indicó sin crecimiento bacteriano.

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 4, se visualiza la concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Cypermethrin en *Azotobacter* sp. En todas las repeticiones experimentales, todas las bacterias aisladas de las tres comunidades Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora, resultaron con una CMB de 9 % (Figura 4).

Figura 4

Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Cypermethrin en Azotobacter sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.



Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 5, se visualiza la concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Chlorpyrifos en *Azotobacter* sp. En todas las repeticiones experimentales, todas las bacterias aisladas de las tres comunidades Collana Chillora, San Francisco de Buena Vista y Canchi Huañingora, resultaron con una CMB de 0.16 % (Figura 5).

Tabla 5

Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Chlorpyrifos frente a Azotobacter sp.

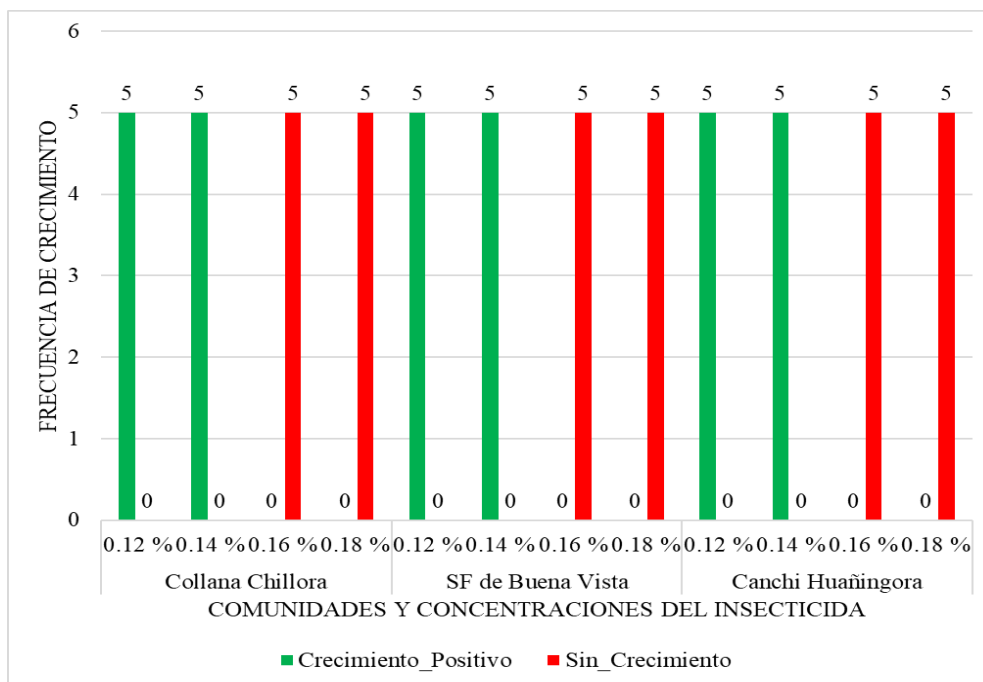
Comunidad	Concentración de Chlorpyrifos	Crecimiento de <i>Azotobacter</i> sp					CMI
		R1	R2	R3	R4	R5	
Collana Chillora	0.12 %	+	+	+	+	+	5R: 0.16 %
	0.14 %	+	+	+	+	+	
	0.16 %	-	-	-	-	-	
	0.18 %	-	-	-	-	-	
San Francisco de Buena Vista	0.12 %	+	+	+	+	+	5R: 0.16 %
	0.14 %	+	+	+	+	+	
	0.16 %	-	-	-	-	-	
	0.18 %	-	-	-	-	-	
Canchi Huañingora	0.12 %	+	+	+	+	+	5R: 0.16 %
	0.14 %	+	+	+	+	+	
	0.16 %	-	-	-	-	-	
	0.18 %	-	-	-	-	-	

Nota: R es repetición; + indicó que hubo crecimiento bacteriano; – indicó sin crecimiento bacteriano.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 5

Concentración mínima bactericida (CMB) del insecticida Chlorpyrifos en Azotobacter sp aislado en tres comunidades del distrito de Caracoto.



Fuente: Elaboración propia.



En la investigación se determinó que *Azotobacter* sp es destruida (efecto bactericida) definitivamente a una concentración del 9 % de Cypermethrin y 0.16 % de Chlorpyrifos. Esto sugiere que, hasta esas concentraciones, sus mecanismos metabólicos, aun poco conocidos salvo por la biosíntesis de algunas enzimas degradadoras de insecticidas, protegen a la bacteria de los efectos de estos compuestos. Al respecto, Mendía (2020) señala que bacterias del género *Bacillus* sp mostraron recuentos altos de colonias frente a los insecticidas Matador y Tamaron, lo que indica una tolerancia y capacidad de degradación de los agroquímicos. De manera similar, Valdivieso (2019) reportó que *Bacillus cereus* degradó al insecticida organofosforado LORSBAN 480, mientras que Kopytko et al. (2017) informaron que cepas de *Bacillus* sp fueron capaces de remover DDT (diclorodifeniltricloroetano), DDD (diclorodifenildicloroetano) y DDE (diclorodifenildicloroetileno). Por otro lado, Marín y Jaramillo (2015), también documentaron de Chlorpyrifos por *Bacillus* sp.

El insecticida Chlorpyrifos es el más tóxico debido a que su aplicación requiere menores concentraciones; sin embargo, la capacidad de *Azotobacter* sp para resistir concentraciones de hasta el 0.16 % sugiere una tolerancia significativa a este compuesto. Esto concuerda con los hallazgos de Hernández et al. (2017), quienes reportaron que los géneros *Serratia*, *Bacillus* y *Pseudomonas* transforman el plaguicida Chlorpyrifos en compuestos simples, lo que reduce su toxicidad. Este proceso es posible gracias al metabolismo fisiológico de degradación de estas bacterias, el cual depende de factores como la concentración del insecticida, el pH, la temperatura y el tipo de suelo.

Los diversos aislamientos presentaron respuestas de CMB similares. Al respecto, Rodríguez (2018) afirma que la tolerancia a los insecticidas en las bacterias podría deberse a su genética y a los genes que codifican proteínas con propiedades enzimáticas



capaces de degradar diversos xenobióticos. Esto fue evidenciado en *Serratia marcescens*, que mostró capacidad de degradación frente al Malathion, un insecticida altamente letal, según lo reportado por el autor.

Observaciones *in situ*, en las tiendas agropecuarias de las ciudades de Puno y Juliaca se comercializan numerosos productos agroquímicos, entre ellos insecticidas, herbicidas y abonos químicos para las plantas. Estos productos no solo causarían la muerte de las malas hierbas o los insectos plaga objetivo, sino que también podrían provocar la muerte de otros seres vivos que forman parte de la cadena alimenticia, afectando el desarrollo normal de las formas de vida en los ecosistemas terrestres y acuáticos. Por ello, resulta fundamental realizar investigaciones como esta, en la que se determinaron tanto la CMI como la CMB para evaluar la tolerancia de *Azotobacter* sp frente a dos insecticidas. En este contexto, Tirado et al. (2014) reportaron que *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas aeruginosa*, lograron degradar el plaguicida Monocrotofós, Asimismo, Quinchía et al. (2006), mencionaron que *Pseudomonas* sp toleró concentraciones de hasta 480 ppm, 4800 ppm, 24000 ppm y 48000 ppm del insecticida Lorsban 4EC en Antioquía (Colombia), resultados superiores a los obtenidos en la presente investigación. Por otro lado, Hernández et al. (2005) destacaron que *Desmodium tortuosum*, toleró el insecticida Malatión y, tras su metabolismo, liberó compuestos de baja toxicidad, como los ácidos S-trimetil fosfotioico y Strimetil fosforoditioico, dimetil ester y ácido tiofenil carboxílico.

En la investigación se colectaron muestras de tres comunidades diferentes para determinar si los aislamientos de *Azotobacter* sp de distintos campos de cultivo, con variaciones en la frecuencia de uso de agroquímicos y el predominio de abonos orgánicos en algunos casos, presentaban diferentes respuestas frente al insecticida. Los resultados



mostraron que las CMB fueron las mismas para todos los aislamientos bacterianos, lo cual concuerda con lo reportado por Betancur et al. (2013), quienes afirmaron que las bacterias presentes en ambientes contaminados con compuestos xenobióticos representados, como los insecticidas, tienden a evolucionar y adaptarse paulatinamente a dichas condiciones adversas. Por lo tanto, sería recomendable mejorar la actividad catalítica y la especificidad enzimática de las bacterias tolerantes mediante técnicas de ingeniería genética o de mutagénesis dirigida (Singh et al., 2008). Esto permite que dichas bacterias, gracias a su tolerancia y empleadas en procesos de biorremediación, siempre con un conocimiento profundo de su fisiología y genética (Watanabe, 2001).

La gran variedad de respuestas metabólicas de las bacterias a los xenobióticos, como los insecticidas evaluados en la presente investigación, está relacionada con la genética de cada una de ellas. Esto se debe a que son portadoras de genes que expresan la biosíntesis de proteínas con características enzimáticas, las cuales son útiles para adaptarse y evitar el daño causado por los xenobióticos. Furukawa y Miyazaki (1986) demostraron esta relación al clonar genes del catabolismo de bifenilos policlorados en el cromosoma de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. Por su parte, Erickson y Mondello (1992) secuenciaron genes que codifican la enzima bifenil dioxigenasa en *Pseudomonas*, útil para monitorear bacterias con genes catabólicos relacionados con la degradación de compuestos xenobióticos (Marzorati et al., 2010). Maya et al. (2012) quienes señalaron que los microorganismos pueden degradar Chlorpyrifo mediante el ácido pirúvico producido durante la glucólisis. Tras la reacción bioquímica, este compuesto se transforma en CO₂ y agua; de lo contrario, se acumula intracelularmente suprimiéndose el crecimiento bacteriano (Silambarasan y Abraham, 2012).



Luego de analizar los resultados, se rechaza la hipótesis planteada, la cual afirmaba: “La concentración mínima bactericida (CMB) de los insecticidas Cypermethrin y Chlorpyrifos sobre bacterias *Azotobacter* sp será mayor al 10% de concentración”. En la investigación se obtuvieron valores a lo estipulado en el proyecto, demostrando que la CMB de estos insecticidas es significativamente más baja de lo esperado.

Para culminar esta sección, se afirma que todas las bacterias presentaron la misma CMB, lo que indica que son sensibles a altas concentraciones de los insecticidas. Sin embargo, no se tiene una respuesta clara sobre el proceso metabólico que rige en *Azotobacter* sp. Aunque en otras especies bacterianas se han estudiado los genes y las enzimas que estas expresan, con el propósito de transformarlas en bacterias con capacidad de degradación de insecticidas, basándose en su tolerancia, el género *Azotobacter* aún carece de una identificación precisa a nivel de especies. Es posible que algunas especies dentro de este género sean más resistente que otras, lo que evidencia la necesidad de realizar más investigaciones en este campo.



V. CONCLUSIONES

- La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aislamientos de *Azotobacter* sp fue de 7 % y 8 % para Cypermethrin, y de 0.12 % a 0.14 % para Chlorpyrifos, observándose diferencias en la respuesta de inhibición entre los aislamientos bacterianos provenientes de los suelos de las comunidades de Collana Chillora y Canchi Huañingora.
- La CMI y la CMB de los aislamientos de *Azotobacter* sp frente a los insecticidas se explican por la capacidad intrínseca de adaptación o degradación que poseen estas bacterias, esto se debe a la producción de enzimas como esterases o carboxilesterasas, codificadas por sus genes, que transforman metabolitos altamente tóxicos en compuestos de menor toxicidad.
- La concentración mínima bactericida (CMB) de los aislamientos de *Azotobacter* sp fue de 9 % para Cypermethrin y de 0.16 % para Chlorpyrifus, siendo la misma en todos los aislamientos colectados en las tres comunidades.



VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de recuentos bacterianos mediante la técnica de densidad óptica para determinar la biomasa bacteriana frente a diversas concentraciones de los insecticidas.
- Llevar a cabo estudios de cuantificación de residuos insecticidas en muestras de suelo.
- Realizar una adecuada gestión de insecticidas, previos estudios de escalamiento de cultivo de *Azotobacter* sp en el laboratorio y posteriormente utilizarlo en el campo.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akbar, S., Sultan, S. y Kertesz, M. (2015). Bacterial community análisis of cypermethrin enrichment cultures and bioremediation of cypermethrin contaminated soils. *Journal of Basic Microbiology*. Vol. 55(7): 819-829. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400805>.
- Betancur, B., Pino, N., Peñuela G. y Gardona S. (2013). Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT. *Revista Gestión y Ambiente*, 16 (3), 119-135.
- Bhatt, P., Huang, Y., Zhan, H. y Chen, S. (2019). Insight into microbial applications for the biodegradation of pyrethroid insecticides. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01778>.
- Calle R. y Ode F. (2014). Biodegradación de carbofurán por bacterias aisladas de suelos agrícolas del distrito Santa Rosa del Valle Río Apurímac, Ene y Mantaro. Tesis de Biólogo Microbiólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga. Ayacucho – Perú. 98 p.
- Castellanos, J. (2012) Selección y caracterización de microorganismos degradadores de plaguicidas. *Memorias 3er Seminario de Ciencias Básicas en Ingeniería – Universidad de Boyacá. Tunja. Colombia*. 1 – 6.
- Condori, P. (2020). Universo, población y muestra. Curso Taller.
- Daniel W. (2011). *Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial Limusa Wiley. México. 755 p.
- Delgado, J., Alvarez A. y Yáñez J. (2018). Uso indiscriminado de pesticidas y ausencia de control sanitario para el mercado interno en Perú. *Rev Panam Salud Publica*. Vol. 42:1-6. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2018.3>.
- Erickson, B. y Mondello, F. (1992). Nucleotide sequencing and transcriptional mapping of the genes encoding biphenyl dioxygenase, a multicomponent polychlorinated-biphenyl-degrading enzyme in *Pseudomonas* strain LB400. *Journal of bacteriology*, 174 (9), 2903-2912.



- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Suelos y biodiversidad. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/a5f11714-3d0b-47d9-a3e4-4aeb19fdad6a/content>.
- Furukawa, K., y T. Miyazaki T. (1986). Cloning of a gene cluster encoding biphenyl and chlorobiphenyl degradation in *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Journal of bacteriology* 166 (2), 392-398. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=214617&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Gallo, S. (2004). Efectos del insecticida Chlorpyrifos sobre el crecimiento y la metamorfosis de *Smilisca phaeota* (Anura: Hylidae). Trabajo de grado (Bióloga). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Área de Biología. Universidad de Antioquia. Medellín - Colombia. 32 p.
- Goycochea, T. y Carranza M. (2016). Determinación del impacto ambiental producido por el uso de agroquímicos en la producción agrícola del distrito de Japelacio – 2014. Tesis de Ing. Ambiental. Facultad de Ecología, Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto. Moyobamba – Perú. 75 p. http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/245/6054714.pdf?sequence=1C3%A1n_Medrano_2016.pdf.
- Guerrero, N. y Jiménez N. (2001). Determinación de la concentración mínima inhibitoria de tres quinolonas para *Escherichia coli* recuperadas de Biofilms sobre sondas urinarias de látex siliconizado. Tesis de Bacterióloga. Facultad de Ciencias Básicas, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia. 119 p. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/55731>.
- Hernández A., Martínez J. y Castillo D. (2005). Biotransformación de malation por cepas de rhizobium aisladas de *Desmodium tortuosum* (Sw) DC. *Rev. Foresta Veracruzana* Vol. 7(2): 53–58.
- Hernández M., Álvarez A. y Ríos A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Rev. Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. Vol. 18 (1): 138 – 159.



- Hernández M., Álvarez A. y Ríos A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Rev. Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 18 (1): 138 – 159.
- Hernández R., Fernández C. y Baptista M. (2014). Metodología de la investigación. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 600 p.
- Hernández, A., Martínez J. y Castillo D. (2005). Biotransformación de malation por cepas de *Rhizobium* aisladas de *Desmodium tortuosum* (Sw) DC. *Rev. Foresta Veracruzana* 7 (2): 53 – 58.
- Jaramillo E., Bermúdez A. y Tirado I. (2016). Bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados presentes en suelos contaminados. *Rev. Ciencias Técnicas Agropecuarias*. Vol. 25 (3): 13 – 22.
- Julca, Y. (2015). Determinación de la concentración mínima bactericida de los antibióticos virginiamicina, ampicilina y el extracto de lúpulo sobre *Lactobacillus* sp aislado del mosto de fermentación de la destilería de Agroindustrias San Jacinto S. A. A. Tesis de Biólogo – Microbiólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 50 p. <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4849>.
- Koneman, E. (1999). Diagnóstico microbiológico. 5ta edición. Editorial Médica Panamericana. p. 795-797. Buenos Aires – Argentina.
- Kopytko M., Torres C. y Gómez E. (2017). Biodegradación estimulada de los suelos contaminados con pesticidas organoclorados. *Rev. RIAA*. Vol. 8 (1): 119 – 130.
- Leal S., Valenzuela A., Gutiérrez M., Bermúdez M., García J., Aldana M., *et al.* (2014). Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agrícolas. *Rev. Terra Latinoamericana*. Vol. 32 (1): 1 – 11.
- Mamani, J. (2020). Tolerancia *in vitro* a dos insecticidas organofosforados de bacterias aisladas de tres campos de cultivo del distrito de Puno. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 89 p. <http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/14526>.



- Marín F., y Jaramillo B. (2015). Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Revista chilena de nutrición*. Vol. 42 (2): 179-185.
- Marín, F., y Jaramillo B. (2015). Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Revista chilena de nutrición*. 42 (2), 179-185.
- Marzorati, M., Balloi A., y Francesca De Ferra, D. (2010). Identification of molecular markers to follow up the bioremediation of sites contaminated with chlorinated compounds. Pp: 16. *En: Streit, W. y R. Daniel (Eds.). Metagenomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. Springer Science + Business Media.
- Maya K., Upadhyay N., Singh S. y Dubey K. (2012). Degradation kinetics of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (tcp) by fungal communities. *Bioresour Technol*, 126, 216-223.
- Mendía, K. (2020). Biodegradación de malatión residual en suelo de cultivo de papa, con bacterias autóctonas. Tesis de Ingeniera Ambiental en Prevención y Remediación, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad de las Américas. Ecuador. 103 p.
- Mireles, M., Villarreal A., Villegas J., Martínez A., Rodríguez G. y Rosas N. (2018). Caracterización de cepas nativas de suelos agrícolas tolerantes a imidacloprid. *Mexican Journal of Biotechnology*. Vol. 3(2): 47-62. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.2.47>.
- Mireles, M., Villarreal A., Villegas J., Martínez A., Rodríguez G. y Rosas N. (2018). Caracterización de cepas nativas de suelos agrícolas tolerantes a imicloprid. *Mexican Journal of Biotechnology*. 3 (2): 47-62.
- Montoro Y., Moreno R., Gomero L. y Reyes M. (2009). Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública*. Vol. 26 (4): 466 – 472.
- Montoya, L. (2017). Capacidad de degradación xenobiótica por microorganismos de



- suelos arroceros tratados con plaguicidas en el Tolima. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias, Universidad de Tolima. Ibagué – Tolima. Colombia. 85 p. <http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/2677/1/T%200701%20441%20CD6176.pdf>.
- Morrillo, P. (2017). Caracterización de consorcios microbianos con capacidad biorremediadora de pesticidas, piretroides (cipermetrina), organofosforados (clorpirifos) y N-(fosfometil) glicina (Glifosato). Tesis de Magíster en Gestión Ambiental. Unidad de Posgrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. 86 p. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5041/1/T-UTEQ-015.pdf>.
- Pérez, G. (2014). Evaluación de la capacidad degradadora y acción de biorremediación de bacterias presentes en suelos con residuos de pesticidas de la florícola Penciaflor. Bachelor's thesis, Quito. Universidad de las Américas.
- Picazo, J. (2000). Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 39 p. http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosEspeciales_Sensibilidad.pdf.
- Quinchía, M., Gómez A., Palencia K. y Giraldo E. (2006). Evaluación de la resistencia de un aislado bacteriano nativo compatible con *Pseudomonas* sp. al insecticida Lorsban 4 EC. Revista EIA. Vol. 5: 101–108.
- Quinchía, M., Gómez A., Palencia K. y Giraldo E. (2006). Evaluación de la resistencia de un aislado bacteriano nativo compatible con *Pseudomonas* sp. al insecticida Lorsban 4 EC. Revista EIA, (5): 101 – 108.
- Rao, N. (1999). Soil microorganisms and plant growth. New Delhi - India: Oxford and IBH Publ.
- Ríos, A. (2018). Determinación de los efectos de seis plaguicidas de amplio espectro sobre cuatro microorganismos benéficos con potencial para la recuperación de suelos agrícolas a nivel de laboratorio. Tesis de Ing. en Biotecnología Ambiental.



Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 101 p.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8941/1/236T0340.pdf>.

Rivera, D., Camelo, M., Estrada G., Obando M., y Bonilla R. (2010). Efecto de diferentes plaguicidas sobre el crecimiento de *Azotobacter chroococcum*. Investigación del Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica. Colombia. 16 p.

Rodríguez, D. (2018). Capacidad de remoción de compuestos organofosforados por *Serratia marescens* en suelos contaminados del distrito de Moche. Tesis de Ingeniero Ambiental, Facultad de Ingeniería, Universidad César Vallejo, Trujillo – Perú. 67 p.

Ruíz, J. (2018). Evaluación de la actividad enzimática de hongos y bacterias procedentes de un suelo agrícola contaminado con plaguicidas de la parroquia San Luis para la elección del microorganismo más eficiente para su biorremediación. Tesis de Ing. en Biotecnología Ambiental. Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 94 p.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/9750/1/236T0350.pdf>.

Sánchez, J. y Henry C. (2012). Degradación del aldrín por *Bacillus licheniformis*, aislado del agua y sedimento de la ciénaga grande de Santa Marta. Acta Biológica Colombiana. Vol. 17 (1): 67–76.

Santander, L., Cardozo, L., Acuña, A., Figueredo, M., Villalva, D., McGahan, S. et al.. (2024). Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Cutiriba. Vol. 7 (3):1-19. DOI: [10.34188/bjaerv7n3-051](https://doi.org/10.34188/bjaerv7n3-051).

Silambarasan, S, y Abraham, J. (2012). Ecofriendly method for bioremediation of chlorpyrifos from agricultural soil by novel fungus *Aspergillus terreus* jas1. Water Air Soil Pollut, 224, 1369.

Singh, S., Hyun Kang S., Mulchandani A. y Chen W. (2008). Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. *Current opinion in*



biotechnology 19 (5): 437-444. Resumen:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18760355>.

- Tirado, P., Jaramillo D. y Bermúdez T. (2014). Obtención de cepas bacterianas con capacidad degradativa de compuestos organofosforados del suelo contaminado de un barrio de Cartagena-Bolívar. Tesis de Master, Universidad de Cartagena. Colombia.
- Tirado, P., Jaramillo D. y Bermúdez T. (2014). Obtención de cepas bacterianas con capacidad degradativa de compuestos organofosforados del suelo contaminado de un barrio de Cartagena-Bolívar. Tesis de Master, Universidad de Cartagena. Colombia.
- Uzma, B., Ali, F., Qureshi, N., Shakeela, Q., Asima, B., Ahmed, S., Hayat, A. y Rehman, M. (2023). Isolation and characterization of synthetic pyrethroids – degrading bacterial strains from agricultural soil. *Brazilian Journal of Biology*. Vol. 83. E271790. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.271790>.
- Valdiviezo, A. (2019). Evaluación de la capacidad de microorganismos edáficos para degradar pesticidas (lorsban 480). Tesis de Ing. Ambiental. Universidad de las Américas. Quito – Ecuador.
- Vargas, G., Alvarez V., Guigón C., Cano P. y García M. (2019). Impacto ambiental por uso de plaguicidas en tres áreas de producción de melón en la Comarca Lagunera, México. *Ciencia UAT, Biotecnología y Ciencias Agropecuarias*. Vol. 13(2): 113-127. <https://www.scielo.org.mx/pdf/cuat/v13n2/2007-7858-cuat-13-02-113.pdf>.
- Watanabe, K. (2001). Microorganisms relevant to bioremediation. *Current opinion in biotechnology* 12, 237-241.
- Xiao, Y., Lu, Q, Yi, X., Zhong, G. y Liu, J. (2020). Synergistic degradation of pyrethroides by the quorum sensing – regulated carboxylesterase of *Bacillus subtilis* BSF01. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Vol. 8:889. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2020.00889/full>.
- Zhao, J., Jia, D., Du, J., Chi, Y. y Yao, K. (2019). Substrate regulation on co-metabolic degradation of β – cypermethrin by *Bacillus licheniformis* B-1. *AMB Express*.



Vol. 9(1): 83. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0808-3>.

Zhao, J., Jiang, Y., Gong, L., Chen, X., Xie, Q, Jin, Y., Du, J., Wang, S. y Liu, g. (2022).
Mechanism of β – cypermethrin metabolism by *Bacillus cereus* GW – 01.
Chemical Engineering Journal. Vol. 430: 132961.
<http://doi.org/10.1016/j.cej.2021.132961>.

ANEXOS

ANEXO 1. Llegada a las zonas de muestreo de suelo en el distrito de Caracoto.



ANEXO 2. Recolección de muestras de suelo en las comunidades del distrito de Caracoto.



ANEXO 3. Recolección de muestras de suelo en la comunidad de Canchi
Huañingora en el distrito de Caracoto.



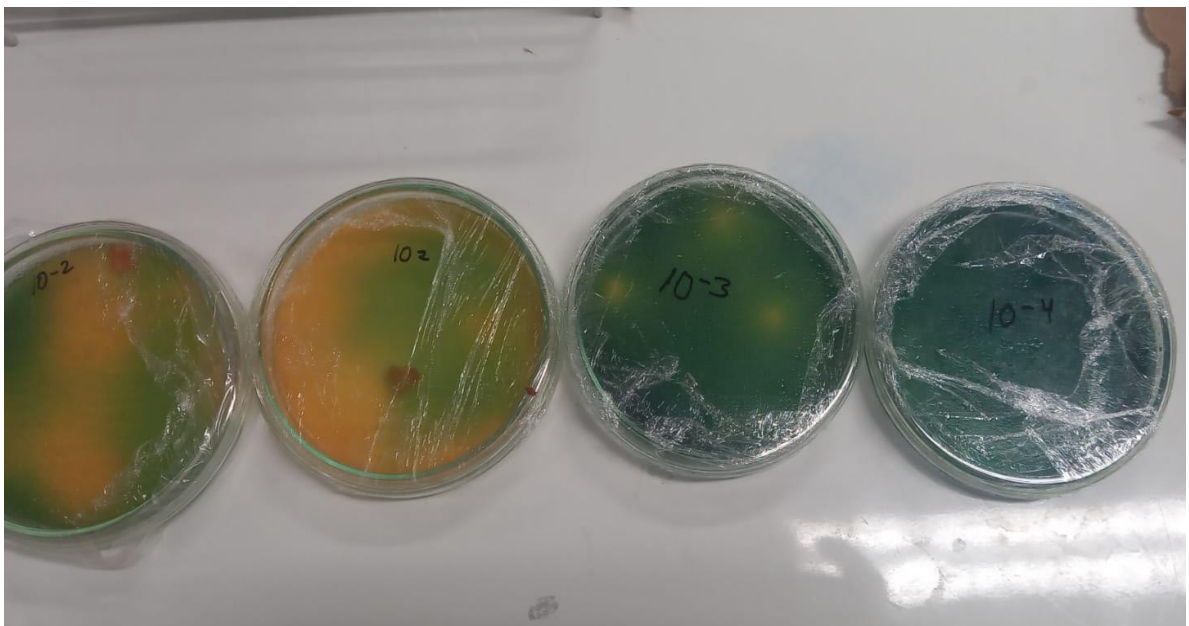
ANEXO 4. Rotulado de las muestras de suelo de la comunidad de Canchi
Huañingora en el distrito de Caracoto para su envío al laboratorio.



ANEXO 5. Preparación de medios de cultivo líquidos para determinar la CMI y CMB de *Azotobacter* sp frente a los insecticidas.



ANEXO 6. Aislamiento de *Azotobacter* sp en medio mineral sin nitrógeno, a partir de muestras de suelos de comunidades del distrito de Caracoto.



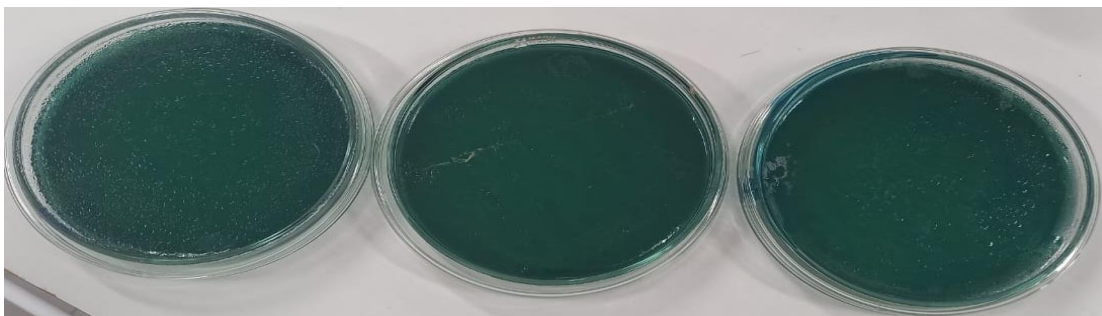
ANEXO 7. Preparación de las concentraciones bacterianas en suero fisiológico comparados con el estándar 0.5 MacFarland.



ANEXO 8. Preparación de las concentraciones de los insecticidas en el Laboratorio de Microbiología - FCCBB.





ANEXO 9. Placas Petri conteniendo medio mineral sin nitrógeno con CMB de los insecticidas sobre *Azotobacter* sp.





ANEXO 10. Constancia de elaboración de tesis en laboratorio.

 *Universidad Nacional del Altiplano*
Facultad de Ciencias Biológicas
Ciudad Universitaria - Teléfono 36 6189 - Apartado Postal 291




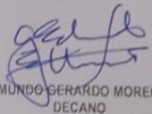
CONSTANCIA N° 72-2023-D-FCCBB-UNA

EL QUE SUSCRIBE, DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA-PUNO,
HACE CONSTAR.-

Que, la Bachiller **MARTHA GISELA YANA CHAIÑA**, egresada de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, ha realizado su trabajo de investigación (tesis), titulado **TOLERANCIA IN VITRO A LOS INSECTICIDAS CYPERMETHRIN Y CHLORPYRIFOS EN AZOTOBACTER SP AISLADAS DE TRES CAMPOS DE CULTIVO DE LA REGIÓN PUNO**, en el Laboratorio de Microbiología Clínica, de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, los meses de junio a agosto del 2023.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime por conveniente.

Puno, 19 de setiembre del 2023.

 
GERARDO MORENO TERRAZAS
DECANO

cc:
Archivo 2023
EGMT/raoz -



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

Por el presente documento, Yo MARTHA GISELA YANA CHAÍDA,
identificado con DNI 73624641 en mi condición de egresado de:

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

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

" TOLERANCIA IN VITRO A LOS ISECTICIDAS CYPERMETHRIN Y CHORPIRIFOS EN Azotobacter sp AISLADAS DE TRES CAMPOS DE CULTIVO DE LA REGION PUNO. "

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 16 de DICIEMBRE del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Martha Gisela Yana Chaño,
identificado con DNI 73624641 en mi condición de egresado de:

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

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

" TOLERANCIA IN VITRO A LOS ISECTICIDAS CYPERMETHRIN
Y CHLORPIRIFOS EN Azotobacter sp AISLADAS DE TRES
CAMPOS DE CULTIVO DE LA REGIÓN PUNO. "

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 16 de DICIEMBRE del 20 24

FIRMA (obligatoria)



Huella