

“Antes de escribir acerca de algo
Debemos tener algo que decir. Lo bueno
Es que dedicándose a las ciencias, solo hay
Que torturar a la naturaleza para que saque
La sopa y nos diga la verdad de su esencia. ”

- Dr. Santana Cano Zenón

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** y mis padres **Víctor M. Reséndiz G.** y **Veronica Bracamontes L.**, por ser cada día mi fuente de motivación. A mi padre por todo su esfuerzo, dedicación, cuidados y entrega a lo largo de mi vida como estudiante y profesionalista, por siempre apoyar mis decisiones y sueños. A mi madre por ser un pilar y confidente en mi vida, por su gran amor manifestado en actos y ser un reflejo de la mujer que me gustaría ser.

A mis hermanos **Daniel** y **Elías Reséndiz**, porque sin darse cuenta, su personalidad, logros, palabras y el simple hecho de verlos crecer, hacen que sea mejor ser humano complementando mis carencias.

A mi novio **Josué Trasviña Martínez**, porque desde que llegó a mi vida ha traído un torbellino de felicidad. Por su firme confianza y su apoyo cada día todos los días en todos los ámbitos de mi vida.

Al **Dr. Fernando A, Solís Domínguez** que siendo mi maestro con sus clases me motivó a hacer una tesis de licenciatura, como mi director de tesis procuró mi bienestar y la constante adquisición de conocimientos y como persona me da una visión de la clase de los valores que debe tener un profesionalista.

A la **Dra. Ariadna S, Sánchez López** por su asesoría en la implementación de técnicas de laboratorio, su tiempo, consejos y amistad.

A la **Dra. Aseneth Herrera Martínez** por su tiempo y todas sus atinadas y valiosas observaciones que ayudaron a mejorar mi desempeño.

A mi amiga **Luz** por las largas pláticas y carcajadas en tiempo de estrés y por su apoyo en técnicas y procedimientos. A aquellas personas que compartieron largas horas conmigo en el laboratorio y se convirtieron en mis amigos: **Lupita, Najla, Enrique y Óscar** por su compañía, pláticas, consejos y risas que hicieron más amena mi estancia.

A mis amigos que siempre procuraron mis avances y han sido fuente de alegría a lo largo de mi vida, **Cristian, Daniela, Marielena, Laura y Fabiola.**

A los chicos de servicio social por su apoyo en este trabajo, en especial a **Guillermo**, por su disposición, interés y responsabilidad.

A todos mis maestros de la carrera Bioingeniería, a mis jefes directos en servicio social y prácticas profesionales, a mis compañeros docentes en las escuelas donde me desempeñe en esa labor, por todas las enseñanzas y retos.

A la Facultad de Ingeniería y al Programa de Bioingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme formarme como profesionista en sus instalaciones y por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto.

Esta tesis fue realizada con el financiamiento del proyecto (3063) “Potencial de plantas nativas del Municipio de Mexicali para utilizarse en fitorremediación de sitios que contienen metales pesados” apoyado en la 19ª Convocatoria Interna de Proyectos de Investigación de la Universidad Autónoma de Baja California.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. La Laguna Salada, Baja California.....	12
1.1.1. Microorganismos extremófilos nativos del desierto.....	12
1.1.2. Bacterias tolerantes a radiación ultravioleta	13
1.2. Metales como elementos contaminantes potencialmente tóxicos.....	14
1.2.1. Aluminio	17
1.2.2. Cadmio	18
1.2.3. Cromo	19
1.2.4. Cobre	19
1.2.5. Plomo	21
1.2.6. Antimonio	22
1.2.7. Zinc	22
1.3. Tolerancia de bacterias a elementos potencialmente tóxicos.....	23
1.4. Bacterias fijadoras de nitrógeno	24
1.5. Bacterias solubilizadoras de fosfatos.....	26
2. JUSTIFICACIÓN.....	28
3. OBJETIVOS.....	30
3.1. Objetivo general.....	30
3.2. Objetivos específicos.....	30
4. HIPÓTESIS.....	31
5. Materiales y métodos.....	32
5.1. Activación de asilados bacterianos.....	32
5.2. Descripción morfológica y tinción de Gram.....	32
5.3. Desarrollo de curva de McFarland.....	33
5.4. Prueba de tolerancia a radiación UV.....	33
5.5. Prueba de fijación de N ₂	34
5.6. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico.....	34
5.7. Prueba de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos.....	35
6. RESULTADOS.....	37
6.1. Activación y selección de aislados bacterianos.....	37
6.2. Comparación de la descripción morfológica y tinción de Gram de los aislados bacterianos seleccionados.....	38
6.3. Composición y equivalencia de la curva de McFarland.....	46
6.4. Prueba de tolerancia a radiación UV.....	47
6.5. Prueba de fijación de N ₂	49
6.6. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico.....	55

6.7. Prueba de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos.....	57
7. CONCLUSIONES.....	84
8. REFERENCIAS.....	86

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fuentes de origen antropogénico de algunos elementos traza.....	16
Cuadro 2. Especificación del método de preservación del cual los aislados bacterianos de suelo rizosférico fueron activados.....	37
Cuadro 3. Tolerancia a diferentes concentraciones de metales pesados de las especies bacterianas seleccionadas de suelo no rizosférico, reportadas previamente.....	38
Cuadro 4. Morfología macro y microscópica y clasificación según la tinción de Gram de los aislados estudiados.....	38
Cuadro 5. Composición y equivalencia de los estándares de la serie de McFarland.....	46
Cuadro 6. Tolerancia de los 30 aislados bacterianos expuestos a radiación UV por diferentes periodos de tiempo.....	48
Cuadro 7. Comparación sobre el control después la incubación en obscuridad por cinco días para la prueba de fijación de N ₂	50
Cuadro 8. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico de aislados bacterianos después de su incubación en obscuridad por diez días.....	55
Cuadro 9. Tolerancia a Al en caldo R2A con 20 mg L ⁻¹ de Al como Al ₂ (SO ₃) ₃ pH _{inicial} =5.5.....	60
Cuadro 10. Tolerancia a Al en caldo R2A con 50 mg L ⁻¹ de Al como Al ₂ (SO ₃) ₃ pH _{inicial} =5.5.....	60
Cuadro 11. Tolerancia a Al en caldo R2A con 100 mg L ⁻¹ de Al como Al ₂ (SO ₃) ₃ pH _{inicial} =5.5.....	61
Cuadro 12. Tolerancia a Al en caldo R2A con 150 mg L ⁻¹ de Al como Al ₂ (SO ₃) ₃ pH _{inicial} =5.5.....	62
Cuadro 13. Tolerancia a Al en caldo LB con 300 mg L ⁻¹ de Al como Al ₂ (SO ₃) ₃ pH _{inicial} =5.0.....	62
Cuadro 14. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 2.5 mg L ⁻¹ de Cd como (CdSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	62
Cuadro 15. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 5 mg L ⁻¹ de Cd como (CdSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	63
Cuadro 16. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 10 mg L ⁻¹ de Cd como (CdSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	63
Cuadro 17. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 20 mg L ⁻¹ de Cd como (CdSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	64
Cuadro 18. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 25 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	64
Cuadro 19. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 35 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	65
Cuadro 20. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 50 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	65
Cuadro 21. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 75 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	66
Cuadro 22. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 100 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	66
Cuadro 23. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 200 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	67
Cuadro 24. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 400 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	67
Cuadro 25. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 600 mg L ⁻¹ de Cr como (K ₂ Cr ₂ O ₇) pH _{inicial} =6.0.....	67
Cuadro 26. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 25 mg L ⁻¹ de Cu como (CuSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	68
Cuadro 27. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 35 mg L ⁻¹ de Cu como (CuSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	68
Cuadro 28. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 50 mg L ⁻¹ de Cu como (CuSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	69
Cuadro 29. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 75 mg L ⁻¹ de Cu como (CuSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	69
Cuadro 30. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 100 mg L ⁻¹ de Cu como (CuSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	69
Cuadro 31. Tolerancia a Pb en caldo R2A con 15 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(NO ₃) ₂ pH _{inicial} =5.5.....	70
Cuadro 32. Tolerancia a Pb en caldo R2A con 30 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(NO ₃) ₂ pH _{inicial} =5.5.....	70

Cuadro 33. Tolerancia a Pb en caldo R2A con 60 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(NO ₃) ₂ pH _{inicial} =5.5.....	71
Cuadro 34. Tolerancia a Pb en caldo R2A con 100 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(NO ₃) ₂ pH _{inicial} =5.5.....	71
Cuadro 35. Tolerancia a Pb en caldo LB 1:10 con 150 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ .3H ₂ O pH _{inicial} =7.5.....	72
Cuadro 36. Tolerancia a Pb en caldo LB 1:2 con 300 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ .3H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	72
Cuadro 37. Tolerancia a Pb en caldo LB con 600 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ .3H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	73
Cuadro 38. Tolerancia a Pb en caldo LB con 900 mg L ⁻¹ de Pb como Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ .3H ₂ O pH _{inicial} =5.5.....	73
Cuadro 39. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 20 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	73
Cuadro 40. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 50 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	74
Cuadro 41. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 100 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	74
Cuadro 42. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 150 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	75
Cuadro 43. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 200 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	75
Cuadro 44. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 300 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	76
Cuadro 45. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 600 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	76
Cuadro 46. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 1000 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	76
Cuadro 47. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 2000 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	77
Cuadro 48. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 4000 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	77
Cuadro 49. Tolerancia de Sb en caldo R2A con 5000 mg L ⁻¹ de Sb como C ₄ H ₄ O ₆ K(SbO)·1/2H ₂ O pH _{inicial} =6.0.....	77
Cuadro 50. Tolerancia de Zn en caldo R2A con 50 mg L ⁻¹ de Zn como (ZnSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	77
Cuadro 51. Tolerancia de Zn en caldo R2A con 70 mg L ⁻¹ de Zn como (ZnSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	78
Cuadro 52. Tolerancia de Zn en caldo R2A con 140 mg L ⁻¹ de Zn como (ZnSO ₄) pH _{inicial} =6.0.....	79
Cuadro 53. Tolerancia de Zn en caldo nutritivo 1:10 con 280 mg L ⁻¹ de Zn como (ZnSO ₄) pH _{inicial} =5.5....	79
Cuadro 54. Tolerancia de Zn en caldo nutritivo 1:10 con 550 mg L ⁻¹ de Zn como (ZnSO ₄) pH _{inicial} =5.2....	80
Cuadro 55. Concentración mínima inhibitoria (CMI mg L ⁻¹) de diferentes metales para los 30 aislados bacterianos.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tabla periódica de los elementos presentes en la biosfera.....	15
Figura 2. Curva de calibración y ajuste por el método de mínimos cuadrados de la escala de McFarland. 47	
Figura 3. Medio NBRIP utilizado como control.....	54

RESUMEN

Las condiciones desérticas extremas de la Laguna Salada Baja California hacen que los microorganismos ahí presentes sean de alto interés biotecnológico. La capacidad de estos microorganismos de tolerar temperaturas oscilantes entre los 4 y 50°C, largos periodos de exposición a radiación UV, además de las condiciones del suelo: alcalinidad con altas concentraciones de sales y muy poca materia orgánica así como con precipitaciones anuales promedio menores a los 130 mm; generan interés por estudiar estos ambientes extremos, pues es sabido que dichas condiciones permiten modificaciones y adaptaciones celulares en los microorganismos que pueden ser aprovechadas en la industria biotecnológica y en la biorremediación.

En este trabajo de tesis se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC, por su siglas en inglés) a elementos potencialmente tóxicos (Al, Cd, Cr, Cu, Pb, Sb y Zn) de 30 aislados bacterianos obtenidos previamente de suelo de la Laguna Salada Baja California: 22 aislados de suelo rizosférico y 8 aislados de suelo no rizosférico (sin vegetación). Todos los aislados se sometieron a exposición de radiación UV (condiciones de laboratorio) por hasta 24 h. Adicionalmente, se estudió la capacidad de los aislados microbianos para fijar N₂, esto cultivándolos en medio malato-sacarosa con azul de bromotimol y, para determinar la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico los aislados se cultivaron en el medio del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP).

De los 30 aislados bacterianos el 50% tolera hasta 24 horas de radiación UV, el 23% fija N₂, el 60% solubiliza fosfato tricálcico y los valores más altos de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para los metales ensayados fueron: Sb 5000 mg L⁻¹, Pb 900 mg L⁻¹, Al 300 mg L⁻¹, Cr 600 mg L⁻¹, Zn 550 mg L⁻¹, Cu 100 mg L⁻¹ y Cd 20 mg L⁻¹. Estos datos

permiten sugerir a los aislados bajo estudio como promotores de crecimiento de plantas en ambientes impactados por metales pesados.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La Laguna Salada, Baja California

La cuenca de la Laguna Salada se encuentra en el norte de Baja California, México. Esta cuenca es de aproximadamente 20 km de ancho y se extiende unos 100 km de noroeste a suroeste (García *et al.*, 2001). Está alineada con la Sierra de Juárez al oeste y las Sierras Cucapá y El Mayor al este y sudeste, respectivamente (Arango *et al.*, 2015).

Hay seis estaciones meteorológicas en la región de la Laguna Salada, su precipitación media anual varía de 54.9 a 127.4 mm y su temperatura media anual varía de 22.1 a 24.4°C. La temperatura normal, durante los meses más fríos del año (diciembre-enero), promedia en 13.3°C, alcanzando en los días más calurosos temperaturas arriba de los 50°C. La extrema aridez de la región se debe probablemente a su ubicación en la sombra de lluvia de la Sierra Juárez y también a su posición relativa a las corrientes meridionales, que llevan la humedad monzónica hacia el norte del Golfo de California durante el verano (Ruiz *et al.*, 2006; Spelz *et al.*, 2008).

Debido a sus características climáticas, extrema aridez y suelo no desarrollado a lo largo de la cuenca, la Laguna Salada es un lecho seco carente de vegetación. Sin embargo, a la periferia se encuentran especímenes propios de zonas áridas y semiáridas (Coyle y Roberts, 1975; Spelz *et al.*, 2008).

1.1.1. Microorganismos extremófilos nativos del desierto

La temperatura, disponibilidad de agua, radiación, estabilidad física de las superficies del suelo, propiedades geoquímicas del suelo local y la falta de nutrientes representan un ambiente extremo para los microorganismos nativos de los desiertos (Craig *et al.*, 2010). Se consideran extremos aquellos ambientes con temperaturas elevadas (55°-121°C), alta

salinidad (15-30%) y alta alcalinidad (pH mayor 8). Por las características anteriores, se podría erróneamente pensar que el desierto es un lugar sin vida cubierto de rocas y arena, pero un ambiente extremo para un organismo, puede ser esencial para otro (extremófilos) (Belnap, 2003; Ramírez *et al.*, 2006).

Existen microorganismos extremófilos que se han adaptado a estas condiciones, entre ellos muchos tipos de bacterias. Las diferentes formas de cómo resisten las bacterias a estas tensiones son en su mayoría desconocidas (Chanal *et al.*, 2006). El estudio de bacterias extremófilas representa un interés científico diversificado, por sus biomoléculas resistentes al entorno, extremoenzimas con aplicaciones en diferentes industrias y en general por que los organismos extremófilos tienen una vida óptima cuando para otros las condiciones son intolerables y hasta letales (Ramírez *et al.*, 2006).

1.1.2. Bacterias tolerantes a radiación ultravioleta

El sol emite radiación ultravioleta (UV) en un amplio espectro, la banda UVC con longitudes de onda por debajo de 280 nm, la banda UVB 280-315 nm y la banda UVA 315-400 nm. Los UVC perjudiciales y una parte de los UVB se absorben gracias a la capa de ozono, sin embargo una parte de la radiación UVB y la radiación UVA alcanzan el nivel del suelo y pueden modificar o dañar moléculas, proteínas y ADN (Grujil, 1999).

En los desiertos, donde el clima es seco y el agua en estado líquido no está disponible, se podría suponer que la radiación UV esterilice la superficie, sin embargo, la tensión por las condiciones desérticas induce la pigmentación celular y mecanismos de protección en ADN en los microorganismos nativos permitiéndoles tolerar niveles altos de este tipo de radiación. El confinamiento de las comunidades microbianas en microambientes podría ser en gran parte debido a la radiación UV (Cockell *et al.*, 2008).

Algunos microorganismos aislados de zonas con altos flujos de radiación UV son extremadamente resistentes a los rayos UV (Wayne *et al.*, 2005). La radiación UVC tiene la capacidad de inactivar virus, bacterias y protozoos, por ello se utiliza como germicida en aguas tratadas (Carré *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2016), superficies sólidas y aire (Hakguder y Unluturk, 2018). Existen diferentes mecanismos que las bacterias utilizan para reparar el daño causado por exposición a radiación UV, tales como fotorreactivación, eliminación de la base nitrogenada dañada del ADN por una glicosilasa, incisión del ADN adyacente al dañado por una endonucleasa o la eliminación del oligonucleótido dañado (Goosen y Moolenaar, 2008).

Bacterias extremófilas que resisten largos periodos de exposición a radiación UV son biotecnológicamente prometedoras por su actividad metabólica (Mohammadipanah y Wink, 2016).

1.2. Metales como elementos contaminantes potencialmente tóxicos

El término contaminación se refiere a la introducción o incremento anormal de sustancias que pueden ejercer un efecto dañino sobre los organismos en los ecosistemas; a partir de su disposición en agua, suelo o aire tienen un periodo de residencia, habilidad para su dispersión y toxicidad. Los contaminantes se pueden dividir en dos grandes grupos: biodegradables (alimento, madera, cartón, etc.) y no biodegradables (sustancias sintéticas, metales pesados, entre otros) (Bautista, 1999).

Los metales son especies químicas no degradables por lo que se quedan en la red trófica (Figura 1), ya que tienen la propiedad de bioconcentrarse, bioacumularse y biomagnificarse en los tejidos vivos (Bocher *et al.*, 2003; Iulia *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2009).

En altas concentraciones son dañinos para los seres vivos si se encuentran biodisponibles (Vullo, 2003).

1H																	2He																												
3Li	4Be											5B	6C	7N	8O	9F	10Ne																												
11Na	12Mg											13Al	14Si	15P	16S	17Cl	18Ar																												
19K	20Ca	21Sc	22Ti	23V	24Cr	25Mn	26Fe	27Co	28Ni	29Cu	30Zn	31Ga	32Ge	33As	34Se	35Br	36Kr																												
37Rb	38Sr	39Y	40Zr	41Nb	42Mo	43Tc	44Ru	45Rh	46Pd	47Ag	48Cd	49In	50Sn	51Sb	52Te	53I	54Xe																												
55Cs	56Ba	57-71	72Hf	73Ta	74W	75Re	76Os	77Ir	78Pt	79Au	80Hg	81Ti	82Pb	83Bi	84Po	85At	86Rn																												
87Fr	88Ra	89-103	104Db	105Jr	106Rf	107Bh	108Hn	109Mt	110	111																																			
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>57La</td> <td>58Ce</td> <td>59Pr</td> <td>60Nd</td> <td>61Pm</td> <td>62Sm</td> <td>63Eu</td> <td>64Gd</td> <td>65Tb</td> <td>66Dy</td> <td>68Er</td> <td>69Tm</td> <td>70Yb</td> <td>71Lu</td> </tr> <tr> <td>89Ac</td> <td>90Th</td> <td>91Pa</td> <td>92U</td> <td>93Np</td> <td>94Pu</td> <td>95Am</td> <td>96Cm</td> <td>97Bk</td> <td>98Cf</td> <td>99Es</td> <td>101Md</td> <td>102No</td> <td>103Lr</td> </tr> </tbody> </table>																		57La	58Ce	59Pr	60Nd	61Pm	62Sm	63Eu	64Gd	65Tb	66Dy	68Er	69Tm	70Yb	71Lu	89Ac	90Th	91Pa	92U	93Np	94Pu	95Am	96Cm	97Bk	98Cf	99Es	101Md	102No	103Lr
57La	58Ce	59Pr	60Nd	61Pm	62Sm	63Eu	64Gd	65Tb	66Dy	68Er	69Tm	70Yb	71Lu																																
89Ac	90Th	91Pa	92U	93Np	94Pu	95Am	96Cm	97Bk	98Cf	99Es	101Md	102No	103Lr																																

Figura 1. Tabla periódica de los elementos presentes en la biosfera. Elementos más abundantes (naranja), elementos minoritarios (azul), elementos traza (amarillo), elementos traza esenciales (verde) y gases nobles (gris). Los elementos tóxicos conocidos se indican en color rojo. (Tomado de Galán y Romero; 2008)

En condiciones naturales, los metales se encuentran en estado insoluble, como consecuencia de diferentes actividades antropogénicas estos compuestos se han acumulado en grandes cantidades y/o forma soluble (Bautista, 1999). En el cuadro 1 se observan las principales fuentes antropogénicas de metales tóxicos al medio ambiente.

Se consideran metales pesados a los elementos metálicos con densidad mayor o igual a 5 g cm^{-3} , basándose en la tabla periódica (Figura 1), sólo 59 elementos serían considerados metales pesados, sin embargo elementos como Al, As, Br, Sb suelen incluirse en los metales pesados por tener características y comportamientos similares; a todo el conjunto se le conoce también como elementos traza. Algunos de estos elementos son micronutrientes esenciales (Co, Cr, Cu, Zn (pocos mg/día)) y otros no esenciales (Be, Cd, Pb, Sb). Sin embargo, todos

los elementos traza son tóxicos si se ingieren o inhalan en grandes cantidades y/o en periodos prolongados (Galán y Romero, 2008).

Cuadro 1. Fuentes de origen antropogénico de algunos elementos traza (Pathania, 2016).

Metal	Fuentes
Al	Preparación de cableado aislado, cerámicas, partes automotrices, pesticidas.
As	Escape de automóviles, polvo industrial, conservantes de madera y tinte.
Cd	Productos petrolíferos, pigmentos de pintura, pesticidas, tubos galvanizados, plásticos, refinerías de Cu.
Cu	Industria de galvanizado, industria del plástico, refinación de metal y emisiones industriales.
Cr	Refinado de petróleo, industria de electrodeposición, cuero, curtido, fabricación textil, procesamiento de pulpa.
Fe	Refinación de metales, piezas de motores.
Hg	Conservantes de madera, curtido de cuero, ungüentos, termómetros, adhesivos y pintura.
Ni	Galvanización, pintura, procesamiento de baterías, refinado de metales y fertilizantes.
Pb	Materiales a base de petróleo, pesticida, gasolina con Pb y baterías móviles.
Zn	Industria del caucho, pinturas, conservantes, baterías, fertilizantes fosfatados y detergentes.

La exposición a metales pesados y su concentración varía a partir de la zona geográfica, características del suelo, procedencia de los alimentos, si el área es urbana o rural, entre otros factores. La incineración de desechos, la quema de combustible en vehículos y la actividad industrial liberan metales a la atmósfera que posteriormente, en forma de precipitados, contaminan el suelo, añadiendo el hecho de que aguas residuales no tratadas debidamente contienen metales pesados y se usan para riego, lo que introduce a los metales pesados en la cadena alimentaria (suelo-planta-humano) convirtiéndose en la principal vía de exposición humana provocando daños severos (dependiendo del metal, el periodo de

exposición y la concentración). Diferentes alternativas químicas y biológicas se han estudiado y aplicado para contrarrestar los daños, por ejemplo el uso de comunidades microbianas para la biorremediación de suelos (Menahem y Ben, 2018). A continuación se describen algunas características y datos importantes de metales considerados como elementos potencialmente tóxicos.

1.2.1. Aluminio

El aluminio (Al) es el tercer elemento más abundante en la corteza terrestre. Su presencia en los minerales del suelo son la principal fuente de Al en ambientes acuosos y biológicos. Es relativamente insoluble a pH neutros (6.0-8.0) mientras que a pH ácido (<6.0) o alcalino (pH> 8.0) mejora su solubilidad y se vuelve más biodisponible. Lo cual es un problema ya que hasta un 50% del suelo potencialmente cultivable es ácido y la solubilidad del catión Al^{+3} es un factor limitante para la productividad de las plantas. Concentraciones elevadas de Al son tóxicas para una gran variedad de organismos (Driscoll y Shecher, 1990; Feng *et al.*, 2011; Kochian *et al.*, 2015). La función biológica de este elemento es desconocida (Schmitt *et al.*, 2016), sin embargo en plantas su respuesta puede ser benéfica o perjudicial dependiendo de la especie vegetal y la concentración de Al en el suelo (Singh *et al.*, 2017).

La presencia de ligandos, baja temperatura y pH (ácido o alcalino) permiten la solubilidad del Al en medio acuoso (Driscoll y Schecher, 1990).

La forma del Al y las rutas de exposición indican el nivel de toxicidad en humanos; estudios sugieren la probabilidad de que la exposición crónica al Al tiene relación con el Alzheimer, cáncer de mama y autismo (Exley, 2016).

La **NOM-052-SEMARNAT-2005** menciona algunos residuos peligrosos que contienen Al. Según la **NOM-127-SSA1-1994** el límite máximo permisible de Al en agua

potable es de 2.0 mgL^{-1} , y la **NOM-010-STPS-1999** establece que el límite de exposición durante una jornada de trabajo de 8 horas en condiciones de temperatura y presión constante para Al, alquilos y Al en sales solubles es de 2 ppm, Al en polvos de piro y Al en humus de soldadura es de 5 ppm y Al metal en polvo y Al_2O_3 es de 10 ppm.

1.2.2. Cadmio

El cadmio (Cd) es un metal pesado no esencial y tóxico, sus fuentes de emisión pueden ser antropogénicas o naturales (7:1) (Wang, 2010), generalmente se encuentra como óxido de cadmio (CdO), cloruro de cadmio (Cl_2Cd) o sulfato de cadmio (SO_4Cd) (Parvau, 2010). Su movilidad es alta en comparación a otros metales ($\text{Cd} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Pb}$) (Kim *et al.*, 2015). Una de las principales fuentes de Cd en el suelo son los fertilizantes fosfatados, sin embargo la adición de fosfatos lo inmoviliza (Kabata y Pendias, 2000).

No son conocidos todos sus efectos ni su interacción con los otros elementos metálicos, tiene propiedades cancerígenas y estrogénicas, afecta principalmente los sistemas renal y esquelético en humanos, en quienes las principales vías de absorción son: gastrointestinal y respiratoria, en los alimentos y al inhalar humo de cigarro respectivamente (Acosta *et al.*, 2009; Goyer, 1997; Johnson *et al.*, 2003). En el suelo su presencia es antagonista al competir con la absorción de macro y micronutrientes como el Ca y Zn esenciales para las plantas, y al ser semejante al Zn y Cu toma sus mismas rutas de absorción.

La biodisponibilidad del Cd en suelos aumenta al disminuir el pH y al mismo tiempo se reduce su absorción al competir con iones de H^+ si el pH es ácido (Santos *et al.*, 2010; Tyler *et al.*, 1989). A un pH alcalino en el suelo el Cd es prácticamente inmóvil (Kabata y Pendias, 2000).

Según la **NOM-001-SEMARNAT-1996** el promedio mensual de Cd en el suelo agrícola no debe exceder los 0.05 mg L^{-1} .

1.2.3. Cromo

En la naturaleza no es muy común el cromo (Cr) elemental, es más frecuente encontrarlo en algún estado de oxidación entre -2 y +6, en el ambiente el Cr (III) y Cr (VI) son los estados más comunes ya que las formas +2, +4 y +5 son inestables y se convierten rápidamente en Cr (III), que oxida posteriormente en Cr (VI). El Cr (III) es un nutriente esencial para los humanos, ya que está relacionado con el metabolismo de la glucosa, lípidos y proteínas, su toxicidad en seres vivos es baja comparada con el Cr (VI) (1:1000) por su baja permeabilidad en la membrana celular se considera inocuo aunque en concentraciones altas puede ocasionar problemas a la salud (Salden, 2011). Por el contrario el Cr (VI) es tóxico, muy soluble y fácilmente atraviesa la membrana plasmática (Ramírez *et al.*, 2009). Ambas formas (Cr (III) y Cr (VI)) son muy utilizadas en la industria y suelen ser liberadas a aguas residuales donde, generalmente se utilizan métodos que desintoxiquen el Cr (VI) a Cr (III) por métodos de reducción ya que el Cr (IV) es el estado más dañino y carcinógeno del Cr (Zhao *et al.*, 2016). Por ello la **NOM-002-ECOL-1996** establece que la descarga mensual de Cr (VI) no debe sobrepasar 0.5 mg L^{-1} .

La forma del Cr en suelo es de importancia ambiental, ya que las plantas absorben los metales en raíces y hojas introduciéndolos a la cadena trófica, el pH del suelo tiene un papel fundamental en la reducción de Cr (VI) a Cr (III) ya que el pH bajo, fomenta la formación de Cr (III) forma inerte y muy poco soluble (Mason, 2012). El Cr no tiene una función esencial para el crecimiento de las plantas (Kabata y Pendias, 2000).

1.2.4. Cobre

El 96% de la materia viva lo constituyen el O, C, H y N, el 4% restante son aproximadamente 30 elementos que cumplen alguna actividad fisiológica, entre ellos algunos

elementos llamados elementos traza esenciales, necesarios para los seres vivos en pequeñas cantidades, ya que en altas concentraciones son considerados tóxicos (Aragon y De Leon, 2012).

En humanos el cobre (Cu) es un metal esencial, el tercero después del Fe y el Zn, es un cofactor para más de 100 enzimas predominado en forma de catión (Cu^{+2}). La ingesta diaria en la dieta es aproximadamente de 1 a 3 mg (depende del individuo). Los alimentos con mayor contenido de Cu son: cacao, nueces, levadura, ostras, carnes, cereales y leguminosas (Sánchez, 2014). La función de este elemento es esencial en procesos como la fotosíntesis y respiración de las plantas, en la reducción y fijación de N_2 , en metabolismo de proteínas y mecanismos de la pared celular, entre otras funciones bioquímicas. La poca ($<5\mu\text{g L}^{-1}$) o nula presencia en el suelo de Cu, se convierte en limitante para la producción de plantas (Kabata y Pendias, 2001), en ese caso se añade Cu en forma de fertilizante orgánico o inorgánico para corregir las deficiencias del micronutriente (Obrador *et al.*, 2013).

Para la sociedad moderna el Cu es un metal esencial debido a su excelente conductividad (Branco *et al.*, 2018), se utiliza como agente antimicrobiano en materiales de construcción y en diferentes superficies exteriores causando problemas ambientales debido a la lixiviación por lluvia, envejecimiento y corrosión de las superficies (Hedberg *et al.*, 2014). También está presente en toda la chatarra de acero al final de su vida útil (Daehn *et al.*, 2017; Velleux *et al.*, 2012) y se utiliza como promotor de crecimiento de cerdos y aves en algunas regiones como Yucatán, México (Alcocer *et al.*, 2007), entre otras aplicaciones que elevan su presencia en el ambiente. Algunas especies vegetales son capaces de tolerar altas concentraciones de Cu absorbido del suelo, pero a partir de 20 mg kg^{-1} se generan efectos tóxicos (Liu, 1996). La intoxicación crónica de Cu inorgánico en humanos causa lesiones celulares, por encima de los 2.9 mg ml^{-1} en sangre se presentan náuseas, vómitos y

dolor abdominal, la intoxicación aguda del metal perjudica la producción de ATP, que después de pocas horas ha provocado la muerte en la mayoría de los casos (Georgopoulos *et al.*, 2002; Goering y Liu, 2018; Ravi *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2015).

1.2.5. Plomo

El plomo (Pb) es uno de los contaminantes más frecuentes y predominantes. Su existencia en sedimentos y suelos envenena el ambiente por siglos, es introducido al medio ambiente de forma natural y antropogénica (Cariou *et al.*, 2017) sin embargo, los desechos de baterías es una de las mayores fuentes de contaminación de Pb (Kristensen *et al.*, 2017). Polvo de suelo contaminado con Pb, platos vidriados con Pb, emisiones industriales, alimentos y el tabaquismo son algunas de las principales fuentes de exposición a Pb en humanos (Celik *et al.*, 2007). No se conoce función biológica alguna para el Pb, por lo tanto afecta a muchos sistemas y órganos, principalmente el sistema nervioso y riñones; cualquier cantidad de Pb por mínima que esta sea es anormal (Shukla *et al.*, 2010).

Las mujeres en gestación en contacto con Pb afectan irreversiblemente el desarrollo y sistema nervioso del infante y la estructura ósea del mismo (Hildebrand, 2011). Bebés y niños suelen ser más susceptibles a intoxicación por Pb, por polvo o astillas de pintura deteriorada que suelen ingerir, afectando principalmente el sistema nervioso, presentando síntomas por debajo de $5 \mu\text{g dL}^{-1}$ de Pb en sangre y causando la muerte si se rebasan los $70 \mu\text{g dL}^{-1}$ (Godwin, 2001; Hauptman *et al.*, 2017).

Como ya se dijo el Pb no tiene una función conocida, incluidas las especies vegetales, su absorción depende del tamaño de partículas en el suelo y del pH aumentando su solubilidad entre 3 y 8.5. El exceso de Pb en plantas retrasa su crecimiento, inhibe la fotosíntesis, altera la nutrición mineral y equilibrio hídrico (Sharma y Dubey, 2005).

1.2.6. Antimonio

El antimonio (Sb) es un elemento tóxico sin función biológica para los seres vivos (Zmijewska, 1994), con propiedades cancerígenas. Su presencia en el suelo es de 0.3-8.4 mg kg⁻¹ aproximadamente (Wei *et al.*, 2011). Las actividades antropogénicas son la principal fuente de contaminación de Sb (Benhamdi *et al.*, 2014), se utiliza como retardante de llama en la industria plástica y en baterías con Pb principalmente. La presencia escasa de Sb y su alta tasa de extracción podría privar a futuras generaciones del mineral (Henckens *et al.*, 2016). El Sb es fácilmente absorbido por las raíces de las plantas y una manera de exposición humana es a través de los alimentos, afectando principalmente a infantes. Los efectos tóxicos del Sb varían a partir de su forma química, Sb (III) es 10 veces más tóxico que el Sb (V) (Ruiz *et al.*, 2017), pero la movilidad y solubilidad del Sb (V) es mayor que la del Sb (III) (Li *et al.*, 2018). Al tener una baja movilidad en suelos oxidantes, el Sb (III) no representa una amenaza al ecosistema, ya que lo que la raíz absorbe no pasa a la parte aérea de la planta (Pérez *et al.*, 2011).

El Sb y muchas de sus formas son prácticamente insolubles en agua, pero al estar presente en pequeñas cantidades (<1 µg g⁻¹) de agua potable, este se disuelve y provoca consecuencias a la salud si es ingerido por humanos o animales, por ello en México la **NOM-201-SSA1-2015** establece que el agua potable no debe rebasar los 0.005 mg L⁻¹ de Sb.

1.2.7. Zinc

El zinc (Zn) es un metal esencial para todas las formas de vida, su presencia es necesaria para un óptimo desarrollo y crecimiento (Ackland y Michalczyk, 2016; Andreini *et al.*, 2006; Auld, 1979; King, 2011). En los organismos vivos el Zn es redox-inerte y su estado de valencia es (II), sus principales ligandos son las proteínas y se requiere para prácticamente todas las funciones celulares (Krężel y Wolfgang, 2016). Este elemento se

libera al ambiente a partir de minerales, procesos atmosféricos, procesos bióticos y actividades antropogénicas.

Cuando el pH del suelo es superior a 7.5 la biodisponibilidad del Zn para los organismos vegetales disminuye considerablemente, por el contrario, cada vez que el pH se reduce un valor, la biodisponibilidad de este elemento aumenta hasta 5 veces. Muchas enzimas de las células vegetales son activadas por iones de Zn, también juega un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células, pero al encontrarse presente en cantidades elevadas, su presencia es antagonista. En el caso de las plantas este elemento puede reducir la biomasa vegetal e inhibe el crecimiento (Sturikova *et al.*, 2018). El cuerpo humano no tiene un reservorio para el Zn, por ello es necesaria su ingesta diaria, una de las principales fuentes de Zn en la dieta es la carne animal. En el organismo humano el Zn es cofactor de varias enzimas, molécula de señalización y necesario para el adecuado funcionamiento del sistema inmune. Durante el embarazo es crucial que no exista carencia del mineral, ya que esto provoca deficiencias de crecimiento, susceptibilidad a infecciones, trastornos de la piel y disfunción en el sistema nervioso central (Rink, 2011). La mayoría de los problemas de toxicidad del Zn en humanos se debe a exposiciones agudas (Hassanian *et al.*, 2014; Kondo *et al.*, 2016; Lech, 2011). El Zn es el metal que en agua potable tiene un rango más amplio de tolerancia (hasta 5 mg L⁻¹) según la **NOM-127-SSA1-1994**.

1.3. Tolerancia de bacterias a elementos potencialmente tóxicos

Todos los metales, aun los esenciales pueden causar efectos tóxicos a los seres vivos, son los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente por su capacidad de biomagnificarse y no degradarse. Existen diferentes alternativas para contrarrestar este tipo de contaminación, por ejemplo la precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, entre otras, que resultan métodos costosos y poco

eficientes que además generan residuos igualmente contaminantes. Una opción menos costosa y eficaz es la remediación mediante microorganismos y sus productos (Cañizares, 2000).

El aislamiento y caracterización de bacterias que pueden crecer en presencia de altas concentraciones de elementos potencialmente tóxicos como los metales es cada vez más frecuente debido a su potencial para biorremediar efectivamente sitios contaminados por estos elementos (Guo *et al.*, 2017; Kang y So, 2016). Algunos microorganismos de sitios antropogénicamente contaminados por metales o nativos de ecosistemas naturales con altas concentraciones de cationes metálicos se han adaptado homeostáticamente al medio, adquiriendo resistencia o tolerancia según sea el caso. La tolerancia es la indiferencia a la presencia o ausencia del elemento, mientras que la resistencia es la posesión de mecanismos de detoxificación que se activan cuando hay presencia del metal. Las bacterias tienen varios mecanismos de resistencia a metales, entre ellos se encuentran principalmente la captura de iones por componentes celulares, la modificación redox a formas menos tóxicas por enzimas y la expulsión de los metales desde el citoplasma por transportadores que se encuentran en la membrana celular (Marrero *et al.*, 2010). Las bacterias que toleran o resisten altas concentraciones de estos elementos, son comúnmente utilizadas para remediar sitios contaminados (biorremediación), por su eficiencia, bajo costo y debido a que son ecológicamente sustentables (Shao *et al.*, 2017).

1.4. Bacterias fijadoras de nitrógeno

El nitrógeno (N_2) es el principal componente de la atmósfera y es un nutriente esencial para la vida. Por medio de dos diferentes ciclos, el N_2 entra al sistema de la tierra sólida; uno de los ciclos es lento y geológico (Stüeken *et al.*, 2016) y otro es rápido y biológico donde el

N_2 atmosférico es disuelto por bacterias y lo convierten a una forma biológicamente disponible, al ser consumidas estas bacterias por otros organismos o en la liberación de amonio (NH_4) en forma de desecho que se oxida rápidamente en nitrato (NO_3) (Johnson y Goldblatt, 2015). La fijación biológica de este elemento se realiza por algunas especies de procariontes y arqueas llamados colectivamente diazótrofes (Gaby y Buckley, 2012). Estos microorganismos expresan un gen llamado *nifH* (fijador de nitrógeno H) que codifica la subunidad de la proteína de hierro nitrogenasa, el gen es un indicador común de la capacidad de fijación de N_2 , aunque esta capacidad no es universal para ningún género (Tang *et al.*, 2017). Esta competencia esta limitada por diferente factores en el suelo: disponibilidad, pH, humedad y cantidad de Fe, Ca, P y K (Soman *et al.*, 2018).

Los diazótrofes se dividen en microorganismos de vida libre o simbióticos (Che *et al.*, 2018; Reardon *et al.*, 2014). Las asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de N_2 se limitan a ciertas plantas específicas, mientras que los diazótrofes de vida libre generan N_2 disponible para el ecosistema en general (Dahal *et al.*, 2017).

Los diazótrofes desempeñan un papel importante en el reservorio del N_2 oceánico (LaRoche y Breitbarth, 2005) y del ecosistema terrestre (Fan *et al.*, 2018). Las plantas necesitan de N_2 para su crecimiento, al ser componente en todas las proteínas, requerido en los procesos metabólicos, en síntesis y transferencia de energía (Boggs y Lucero, 2009). La cantidad insuficiente de N_2 en el suelo es el factor más limitante después del agua para el rendimiento de las plantas (Celaya y Villegas, 2011), seguido del fosforo (P) y el potasio (K) (Ahmad *et al.*, 2016). La forma en que las plantas lo obtienen y asimilan es absorbiéndolo por medio de las raíces en forma NO_3^- en condiciones anaeróbicas y si el suelo es pantanoso (condiciones aeróbicas) lo adquieren en forma de NH_4^+ (Xuan *et al.*, 2017).

1.5. Bacterias solubilizadoras de fosfatos

El P es un elemento esencial, su disponibilidad afecta directamente a la productividad de los ecosistemas (Nesme, 2018). La cantidad de P es un factor para estimar la fertilidad de los suelos de cultivo ya que es un componente estructural de ácidos nucleicos, coenzimas y fosfolípidos (Garbanzo-León *et al.*, 2017). Su ausencia limita la fijación de N₂ y también el crecimiento de las plantas, por ello los fertilizantes fosfatados (hechos a partir de recursos no renovables) son excesivamente utilizados (Pang *et al.*, 2018). A nivel mundial se generan y utilizan 42 700 millones de toneladas de fertilizantes fosfatados (FAO, 2015), pero su continua adición, resulta en una disminución de la absorción de fosfatos en el suelo (Munira *et al.*, 2018), siendo mayor la cantidad de P agregada que la absorbida por las plantas ya que, con el tiempo el P se vuelve a formas no biodisponibles (Soltangheisi *et al.*, 2018).

El P tiene una alta afinidad por la fase sólida del suelo, que bien podría satisfacer la necesidad de los cultivos por sí solo (fosfato ligado) pero se vuelve no disponible al precipitarse comúnmente por Al³⁺ y Fe³⁺ en suelos ácidos y por Ca²⁺ cuando el suelo es calcáreo. Los “activadores de fosfato” transforman el P en formas biodisponibles para las plantas, sin necesidad de añadir grandes cantidades de fertilizantes sintéticos. Es posible transformar el fosfato mediante reacciones químicas y también mediante interacciones biológicas incluyendo a grupos de bacterias solubilizadoras de fosfato (PSB por sus siglas en inglés). Entre las ventajas de esta alternativa biológica se encuentra la transformación de fosfato orgánico e inorgánico del suelo, la factibilidad económica y el alto efecto de activación (Zhu *et al.*, 2018). La población de estos microorganismos es universal y se concentra en la zona rizosférica (Awais *et al.*, 2017). La producción de ácidos orgánicos (ácido oxálico, láctico, cítrico, succínico, acético, fórmico, entre otros) por el metabolismo

microbiano es el principal mecanismo de solubilización de P, la liberación del ácido provoca una disminución del pH de la zona rizosférica que promueve una mayor concentración de P soluble (Pande *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2018).

2. JUSTIFICACIÓN

Bacterias extremófilas aisladas de suelo rizosférico y no rizosférico de la Laguna Salada Baja California, México, fueron sometidas a varias pruebas por investigaciones previas. Dichos aislados se retomaron con la intención de observar su capacidad de vivir en condiciones en las que la mayoría de los microorganismos muere, por ejemplo, la tolerancia a largos periodos de exposición a radiación UV. Los aislados bacterianos tolerantes, podrían promover una simbiosis positiva en especies vegetales de la región generando una mayor resistencia a los rayos UV del sol.

Es bien sabido que los metales, aun los esenciales, a partir de ciertas concentraciones y la forma en la que se encuentren, generan toxicidad en diferentes grados. Una de las características de los metales es que no se degradan como la materia orgánica, sino que se necesitan métodos químicos agresivos, que generan residuos, son costosos y no siempre efectivos para la remediación del sitio que los contenga. Microorganismos capaces de vivir en ambientes contaminados por metales pesados en un amplio rango de pH y con muy poca materia orgánica, como los microorganismos nativos de los desiertos, son una opción para la remediación de sitios contaminados, sin alterar los ecosistemas y haciendo una menor inversión económica. Los fertilizantes inorgánicos son otra fuente importante de contaminación pues promueven la acidificación del suelo, permitiendo la lixiviación de metales que inhiben el crecimiento vegetal y los introduce a la red trófica. Los principales macronutrientes limitantes de la planta son el N₂ y el P, por lo que los fertilizantes sintéticos más utilizados son los nitrogenados y los fosfatados con producciones anuales de miles de toneladas. Características como la fijación de N₂ y solubilización de fosfatos, son capacidades de los microorganismos que permiten su uso como biofertilizantes.

La mayoría de los microorganismos extremófilos poseen adaptaciones o modificaciones tanto metabólicas como celulares que favorecen que estos microorganismos toleren o se adapten a condiciones ambientales inhabilitables para la mayoría de los seres vivos lo cual les hace tener un alto valor científico y económico ya que pueden explotarse en diversos tipos de industrias. Es de importancia conocer la potencialidad de los microorganismos nativos de la región para contar con opciones menos agresivas y más económicas en las industrias locales.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Seleccionar microorganismos nativos de la Laguna Salada Baja California tolerantes a elementos potencialmente tóxicos, radiación UV, fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar la mínima concentración inhibitoria (CMI) de Al, Cd, Cr, Cu, Pb, Sb y Zn en aislados bacterianos de la Laguna Salada Baja California.
- Seleccionar microorganismos que sean tolerantes a radiación UV en diferentes periodos de tiempo (0.5-24 h).
- Seleccionar bacterias que solubilizan fosfato tricálcico y fijen N₂.

4. HIPÓTESIS

Los aislados bacterianos del ambiente extremo de la Laguna Salada Baja California son capaces de tolerar diversos metales pesados, diferentes periodos de radiación UV, siendo además fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Activación de aislados bacterianos

Los aislados bacterianos utilizados en esta tesis son parte de la colección microbiana del laboratorio de Bioingeniería a cargo de los doctores Fernando Amílcar Solís Domínguez y Aseneth Herrera Martínez. Se utilizaron 30 aislados de la Laguna Salada, Baja California previamente conservados por liofilización en alginato de sodio o almacenados en glicerol. 22 de estos aislados eran provenientes de suelo rizosférico (Saldaña, 2016) y 8 aislados de suelo no rizosférico (sin vegetación) (López, 2015). Los aislados fueron activados por triplicado en placas de agar Reasoner's 2A (R2A) a pH 8.5 suplementado con NaCl 12% p/p (R2A modificado) e incubados a 35°C por 48 h.

5.2. Descripción morfológica y tinción de Gram

Para cada aislado bacteriano se hizo la descripción de morfología colonial indicando la forma, elevación, borde, color y textura después de ser incubadas a 35°C por 48 h. Se realizó por duplicado la tinción de Gram. Se hicieron los frotis correspondientes y se realizó la tinción como sigue:

- Cristal violeta (enjuague después de 60 segundos)
- Yodo lugol (enjuague después de 60 segundos)
- 5 gotas de alcohol-acetona 3:5 (enjuague inmediatamente)
- Safranina (enjuague después de 45 segundos)

En un microscopio de campo claro (Primo Star marca ZEISS) se observaron las características microscópicas, empleando los objetivos 10, 40 y 100x (todas las fotografías se tomaron a 100x, colocando un cubreobjetos sobre la muestra y una gota de aceite de inmersión). La descripción morfológica y tinción de Gram se reportaron de forma comparativa con los descritos en los trabajos de tesis previos del grupo de investigación.

5.3. Desarrollo de curva de McFarland

Para cuantificar el crecimiento microbiano en los diferentes ensayos se hizo la curva de McFarland. Se prepararon soluciones de BaCl_2 y H_2SO_4 ambas al 1% y se utilizaron para elaborar una serie de estándares de McFarland contenidos en tubos de ensaye con rosca de 15 mL.

La mezcla adecuada de BaCl_2 y H_2SO_4 produce cantidades conocidas de BaSO_4 , que semeja la capacidad de dispersión de una suspensión de células bacterianas y de este modo se permite estimar la cantidad de biomasa presente en el medio. Las mediciones turbidimétricas basadas en la escala de McFarland se realizan en rangos de longitud de onda de 420-660 nm (Lahuerta y Pérez, 2012).

Todas las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 600 nm en un espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad).

5.4. Prueba de tolerancia a radiación UV

En 7 mL de medio líquido R2A se inoculó con asa bacteriológica el aislado microbiano, posteriormente el cultivo fue incubado a 35°C en agitación oscilatoria de 100 rpm, después de 48 h de incubación el paquete celular se lavó por duplicado con agua destilada estéril y se ajustó la absorbancia a 1 en el espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad). Se sembraron por extensión con varilla 100 μL de inóculo sobre placas de agar R2A modificado y se expusieron durante 0.5 h a radiación UV a una distancia aproximada de 50 cm de una lámpara germicida de luz UV (OSRAM G30 T8 30 W) en condiciones asépticas. Se incubaron a 35°C en condiciones de obscuridad durante 48 h. Se aumentó el tiempo de exposición a aquellos microorganismos que mostraran tolerancia de 2, 6, 12 y 24 horas, cada prueba se realizó por duplicado.

5.5. Prueba de fijación de N₂

Se tomó una muestra de microorganismo con el asa bacteriológica y se inoculó en 5 ml de caldo R2A modificado, este pre inóculo fue incubado a 35°C con agitación oscilatoria de 120 rpm por 72 h. Después de este tiempo el cultivo se centrifugó en tubos Falcon a 4000 rpm durante 20 min y el paquete celular se enjuagó dos veces con agua destilada desechando el sobrenadante. Se ajustó la absorbancia a 1 en espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad) diluyendo la concentración bacteriana con agua destilada estéril.

En medio semisólido malato-sacarosa añadiendo 3ml L⁻¹ de indicador de pH azul de bromotimol se justó el pH a 7.2 (Anexos 8.1). En 5 mL del medio se inocularon alícuotas de 50 µL de pre inóculo bacteriano lavado. Se incubaron en condiciones de obscuridad a 35°C por 5 días. El cambio de color de azul a amarillo indica actividad nitrogenasa anaeróbica (Croes *et al.*, 2014). Esta prueba se realizó para cada uno de los aislados microbianos utilizados en la presente investigación.

5.6. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico

Se tomó una asada del microorganismo y se inoculó en 5 ml de caldo R2A modificado, se incubó a 35°C en agitación oscilatoria de 120 rpm por 72 h. Se centrifugó y se realizaron lavados del paquete celular con agua destilada estéril. Posteriormente se ajustó la absorbancia de la misma manera que en la prueba de fijación de N₂.

Para evaluar la capacidad de solubilización de fosfatos se utilizó el medio de crecimiento con fosfato del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP) (Anexos 8.2, Nautiyal, 1999) agitando procurando la homogeneidad antes de verter en placas de Petri.

En condiciones asépticas, con un sacabocados se hicieron pocillos en el agar NBRIP de aproximadamente un volumen de 0.22 cm^3 con un radio de 0.3 cm. Se inocularon por duplicado en cada placa alícuotas de $30 \mu\text{L}$ de los cultivos de aislados microbianos lavados. La presencia de un halo transparente después de 10 días de incubación en obscuridad indican que el aislado bacteriano solubiliza fosfato tricálcico (Nautiyal, 1999).

5.7. Prueba de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos

Los aislados microbianos fueron incubados a 35°C en agitación oscilatoria de 120 rpm durante 48 h en 5 ml de caldo soja de caseína a pH 8.5 con NaCl 8% p/p. Las condiciones de pH y la adición de NaCl, se hicieron para proporcionar condiciones similares a las del sitio de donde fueron aislados los microorganismos.

Se inocularon $150 \mu\text{L}$ de los aislados lavados con absorbancia (600nm) ajustada a 1.0 en 5 ml de caldo R2A, Luria Bertani (LB) o caldo nutritivo según el aislado microbiano, con las concentraciones de metales a analizar.

Los niveles de tolerancia de la mayoría de los metales se evaluaron en caldo R2A a excepción del Zn con 280 y 550 mg L^{-1} donde se utilizó caldo nutritivo diluido 1:10; Pb con 150 mg L^{-1} en caldo LB diluido 1:5; Pb 300 mg L^{-1} en caldo LB 1:2 y Al 300 mg L^{-1} , Pb 600 y 900 mg L^{-1} en caldo LB.

Para la prueba de Al a 300 mg L^{-1} se partió de una solución madre de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ a una concentración de 10 g L^{-1} de Al. Esta solución se esterilizó por filtración a través de membrana de acetato de etilo con tamaño de poro de $0.2 \mu\text{M}$ marca VWR.

Las pruebas se realizaron por triplicado añadiendo 20, 50, 100, 150 y 300 mg L^{-1} de Al como $(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)$; 2.5, 5, 10 y 20 mg L^{-1} de Cd como $(3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O})$; 25, 35, 50, 75, 100, 200, 400 y 600 mg L^{-1} de Cr como $(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$; 25, 35, 50, 75 y 100 mg L^{-1} de Cu como

(CuSO₄); 15, 30, 60 y 100 mg L⁻¹ de Pb como (Pb(NO₃)₂); 150, 300, 600 y 900 mg L⁻¹ de Pb como Pb(C₂H₃O₂)₂; 20, 50, 100 150, 300, 600, 1000, 2000, 4000 y 5000 mg L⁻¹ de Sb como (C₄H₄O₆K (SbO)·1/2H₂O); 50, 70, 140, 280 y 550 mg L⁻¹ de Zn como (ZnSO₄).

En todos los tratamientos se ajustó el pH con soluciones diluidas de HCl y NaOH. Para las pruebas de Al 20-150 mg L⁻¹ el pH inicial fue 5.5, para Al 300 mg L⁻¹ el pH se ajustó a 5.0 (el medio sin metal se esterilizó en autoclave a un pH=14 al añadir la solución madre estéril el pH disminuyó a 5); Pb 15-100, 600 y 900 mg L⁻¹ con un pH inicial de 5.5; para Pb 150 mg L⁻¹ un valor de pH 7.5; Pb 300 y 600 mg L⁻¹ a pH 6; Zn 280 y 550 mg L⁻¹ a pH 5.5 y 5.2 respectivamente, todas las pruebas restantes del listado mencionado en el párrafo anterior se evaluaron a pH 6. Todos los controles fueron preparados a partir de las características (pH y caldo) del medio con metal.

Los tratamientos fueron incubados a 35°C con agitación oscilatoria de 125 rpm por 48 h. Posteriormente se evaluó la tolerancia midiendo la absorbancia del control (cultivo microbiano crecido sin metal) y los medios con metal a una longitud de onda (λ) de 600 nm en el espectrofotómetro (SmartSpec Plus Spectrophotometer de BioRad) con lecturas de 3 mL para cada muestra. Si el microorganismo mostró tolerancia (crecimiento), en las primeras concentraciones de metal probadas, entonces se aumentó la concentración de metal en el medio, hasta encontrar la mínima concentración inhibitoria (CMI) para cada aislado.

La cristalería y el material de laboratorio utilizado en estas pruebas fueron lavados con detergente neutro libre de fosfatos diluido al 10%, y se sumergieron en cubetas de HCl al 2% por 48 h para su posterior enjuague con agua destilada. Los residuos generados se depositaron en un contenedor para recolectar el precipitado al incrementar el pH añadiendo óxido de calcio, método común para la precipitación química de metales (Charerntanyarak, 1999).

6. RESULTADOS

6.1. Activación y selección de aislados bacterianos

Los aislados bacterianos estudiados de suelo rizosférico se mencionan en el cuadro 2. Los aislados IX (6.b.4) y XII (2.2.b.3) no se localizaron en el banco de microorganismos; los aislados XVII (8.1.b.1) y XXXII (8.b.1) se descartaron por no ser de la rizósfera; el aislado XXXIV (2.2.b.1) no se logró activar y los aislados VI (5.1.b.2), X (5.b.3), XXII (1.3.b.5) y XXV (p.9.1.bac 3) se descartaron por no crecer a pH ácido, condición necesaria para las pruebas de tolerancia a metales. Se seleccionaron 8 aislados bacterianos de suelo no rizosférico (A, E, H, N, M, S1, S3 y U1) (cuadro 3), por antecedentes de la especie a tolerar alta concentraciones de metales pesados. Todos los aislados bacterianos provenientes de suelo no rizosférico fueron activados de alginato de sodio.

Cuadro 2. Especificación del método de preservación del cual los aislados bacterianos del suelo rizosférico fueron activados. (AS=Alginato de Sodio, G=Glicerol)

Grupo	Aislado	Método de preservación del cual se activó
I	p.3.1 bac 2	AS
II	1.3.b.6	AS
III	5.1.b.1	G
IV	p.8.bac 2	G
V	2.2.b.4	AS
VII	9.1.b.1	AS
VII	5.2.b.2	AS
XI	6.2.b.4	AS
XIII	6.b.3	G
XIV	3.b.2	AS
XV	4.2.b.3	G
XVI	4.2.b.1	G
XVIII	p.3.1 bac 1	G
XX	6.1.b.1	G
XXI	5.1.b.5	G
XXIII	1.3.b.4	G
XXVI	7.b.2	AS
XXVIII	5.1.b.4	AS
XXIX	p.8.1 bac 2	G
XXX	6.b.4	AS
XXXI	8.1.b.4	G
XXXIII	4.2.b.4	G


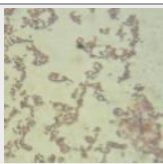


Cuadro 3. Tolerancia a diferentes concentraciones de metales pesados de las especies bacterianas seleccionadas de suelo no rizosférico. Reportadas previamente (López, 2015).


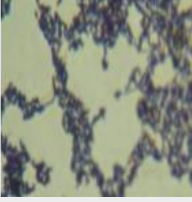
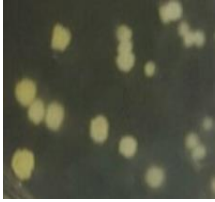
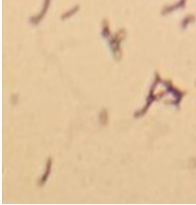

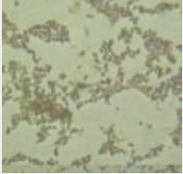
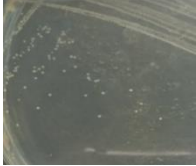
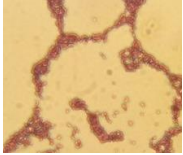

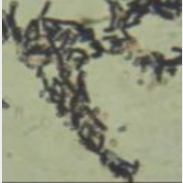

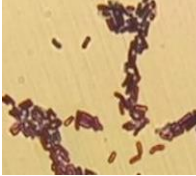




Aislado	Especie	Metal al que mostró tolerancia	Artículos científicos que resaltan tolerancia de la especie a metales
A	<i>Bacillus sp.</i>	Cd ²⁺ , Pb ²⁺ y Cr ²⁺ Cu ²⁺ , Cd ²⁺ y Cr ⁶⁺ Cd ²⁺ , Cr ⁶⁺ y Ni ²⁺	Martínez <i>et al.</i> , 2010 Hanjun <i>et al.</i> , 2010 Amallesh <i>et al.</i> , 2012
U1			
E	<i>Pantoea agglomerans</i>	Zn ²⁺ , Cu ²⁺ y Cd ²⁺ Cd y Pb	Acioly <i>et al.</i> , 2017 Pishchik <i>et al.</i> , 2009
H	<i>Streptomyces sp.</i>	Cr ⁶⁺ Cd ²⁺ , Cu ²⁺ y Zn ²⁺	Morales <i>et al.</i> , 2007 Zhou <i>et al.</i> , 2016
M			
N			
S1	<i>Bacillus licheniformis</i>	Pb Cr, Cu, Pb y Zn	Wen <i>et al.</i> , 2018 Brunetti <i>et al.</i> , 2012
S3	<i>Bacillus cereus</i>	Ba, Cd y Ga Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	Selenska <i>et al.</i> , 1999 Huang Fei <i>et al.</i> , 2018

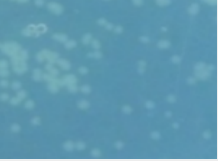
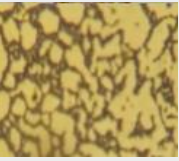

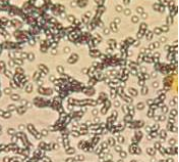

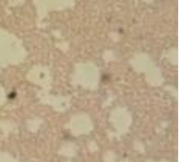


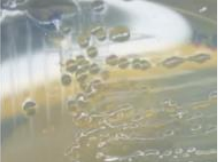

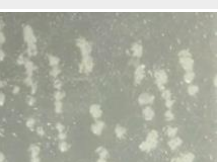



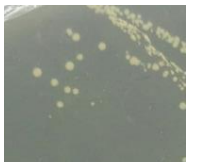

6.2. Comparación de la descripción morfológica y tinción de Gram de los aislados bacterianos seleccionados





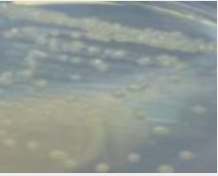


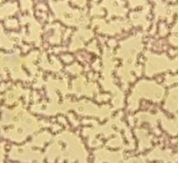

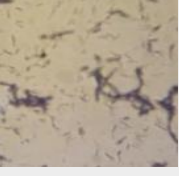

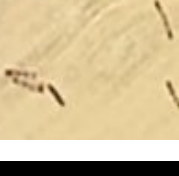


De los aislados provenientes de suelo rizosférico, el 50% son Gram positivos. Predominan los cocos (90% de los 22 aislados). El 50% de los aislados de suelo no rizosférico son bacilos y de ellos un total de 88% Gram Positivos.




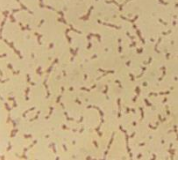



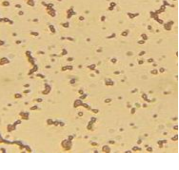



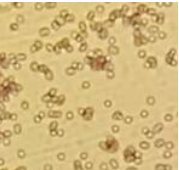




Cuadro 4. Morfología macro y microscópica y clasificación según la tinción de Gram de los aislados estudiados. Se muestra en la primera fila el aislado bacteriano previamente preservado y en la segunda el activado en este trabajo de tesis.


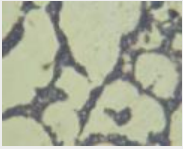



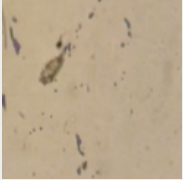

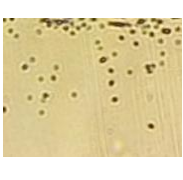



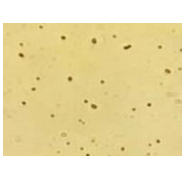

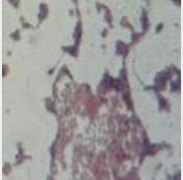


Grupo	Aislado	Foto aislado bacteriano	Morfología	Tinción de Gram	Morfología celular/ Grupo Gram
I	p.3.1 bac 2		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram Positivos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram Negativos

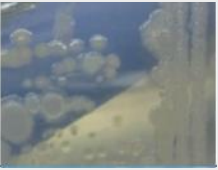
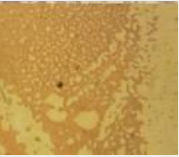

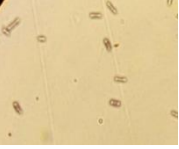






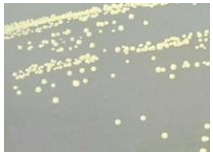
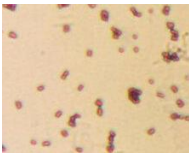




II	1.3.b.6		Forma: circular Elevación: pulvinada Margen: entero Color: blancas Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: semi amarillas Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
III	5.1.b.1		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blancas Textura: gomosa		Cocos Gram negativos
IV	p.8. bac 2		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: dura		Bacilos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Bacilos Gram positivos
V	2.2.b.4		Forma: Irregular Elevación: Convexa Margen: Ondulado Color: Blanco Textura: Gomosa		Bacilos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanco Textura: gomosa		Bacilos Gram positivos

















VII	9.1.b.1		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram positivos
VIII	5.2.b.2		Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blanco Textura: gomosa		Cocos Gram negativos
XI	6.2.b.4		Forma: irregular Elevación: convexa Margen: Entero Color: semi amarillas Textura: Gomosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanco Consistencia: gomosa		Cocos Gram positivos
XIII	6.b.3		Forma: Circular Elevación: Elevada Margen: Entero Color: Blancas Textura: Pastosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram positivos

XIV	3.b.2		Forma: Irregular Elevación: elevada Margen: Entero Color: Amarillo Textura: Pastosa		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram negativos
XV	4.2.b.3		Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: semi amarillas Textura: semi dura		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanco Textura: semi dura		Cocos Gram negativos
XVI	4.2.b.1		Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: gomosa		Bacilos Gram positivos
			Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: blancas Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
XVIII	p.3.1bac1	Sin imagen	Sin información	Sin imagen	Sin información
			Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: blanca Textura: dura		Cocos Gram negativos

XX	6.1.b.1		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Vibrio Gram negativo
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: blanca Textura: pastosa		Cocos Gram negativos
XXI	5.1.b.5		Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: amarillo Textura: dura		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanco Textura: gomosa		Cocos Gram negativos
XXIII	1.3.b.4		Forma: circular Elevación: pulvinada Margen: entero Color: naranja opaco Textura: gomosa		Cocos Gram negativo
			Forma: circular Elevación: pulvinada Margen: entero Color: naranja brillante Textura: gomosa		Cocos Gram negativos
XXVI	7.b.2		Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanco Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: pastosa		Cocos Gram positivos

XXVIII	5.1.b.4		Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blancas Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blancas Textura: pastosa		Bacilos Gram positivos
XXIX	p.8.1bac2		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blancas Textura: pastosa		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: blancas Textura: gomosa		Cocos Gram positivos
XXX	6.b.4		Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: Amarillo Textura: semi dura		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: elevada Margen: entero Color: amarillo Textura: semi dura		Cocos Gram negativos
XXXI	8.1.b.4		Forma: circular Elevación: plana Margen: entero Color: semi amarillas Textura: semi dura		Cocos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: semi amarillas Textura: pastosa		Cocos Gram positivos

XXXIII	4.2.b.4		Forma: Circular Elevación: Elevada Margen: ondulado Color: semi amarillo Textura: dura		Cocos Gram negativos
			Forma: circular Elevación: plana Margen: ondulado Color: semi amarillo Textura: goomosa		Cocos Gram negativos
A	<i>Bacillus sp.</i>		Forma: rizoides Elevación: elevada Margen: entero Color: blanco Textura: viscosa		Bacilos Gram positivos
			Forma: rizoides Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: viscosa		Bacilos Gram negativos
E	<i>Pantoea Agglomerans</i>		Forma: irregular Elevación: plana Margen: ondulado Color: blanco Textura: humeda		Bacilos Gram positivos
			Forma: circular Elevación: monticular Margen: entero Color: amarillo Textura: pastosa		Bacilos Gram negativo
H	<i>Streptomyces sp.</i>		Forma: circular Elevación: monticular Margen: entero Color: amarillo Textura: seca		Actinomicetos Gram positivo
			Forma: circular Elevación: monticular Margen: entero Color: blanco Textura: seca/dura *Con el tiempo se torna amarillo mostaza		Actinomicetos Gram positivo

M	<i>Streptomyces</i> <i>sp.</i>		Forma: circular Elevación: monticular Margen: entero Color: blanco Textura: seca		Actinomicetos Gram positivo
			Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: viscosa		Bacilos Gram positivos
N	<i>Streptomyces</i> <i>sp.</i>		Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: amarillo Textura: seca		Actinomicetos Gram positivo
			Forma: circular Elevación: convexa Margen: entero Color: blanca Textura: seca/dura *con el tiempo se torna amarilla mostaza		Actinomicetos Gram positivo
S1	<i>Bacillus</i> <i>Licheniformis</i>		Forma: rizoide Elevación: plana Margen: filamentoso Color: beige Textura: seca		Bacilos Gram positivos
			Forma: rizoide Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: viscosa		Bacilos Gram positivos
S3	<i>Bacillus</i> <i>Cerus</i>		Forma: filamentosa Elevación: plana Margen: ondulado Color: blanco Textura: húmeda		Bacilos Gram positivos
			Forma: filamentosa Elevación: plana Margen: ondulado Color: beige Textura: pastosa		Cocos Gram positivos

U1	<i>Bacillus sp.</i>		Forma: irregular Elevación: elevada Margen: ondulado Color: beige Textura: humeda		Estreptobacilos Gram positivos
			Forma: irregular Elevación: plana Margen: entero Color: blanco Textura: humeda/viscosa		Estreptobacilos Gram positivos

6.3. Composición y equivalencias de la curva de McFarland

La curva de McFarland se preparó como se indica en el cuadro 5 y se realizó un ajuste por mínimos cuadrados como se muestra en la Figura 2. En todas las pruebas se utilizó el espectrofotómetro para ajustar la absorbancia como se indica en el apartado 5.3.

Cuadro 5. Composición y equivalencia de los estándares de la serie de McFarland.

Tubo	Solución acuosa de H ₂ SO ₄ al 1%	Solución acuosa de BaCl ₂ al 1%	Densidad bacteriana (x10 ⁸) (UFCmL ⁻¹)	Absorbancia a 600 nm
1	9.9	0.1	3	0.210
2	9.8	0.2	6	0.451
3	9.7	0.3	9	0.642
4	9.6	0.4	12	0.799
5	9.5	0.5	15	1.048
6	9.4	0.6	18	1.202
7	9.3	0.7	21	1.289
8	9.2	0.8	24	1.433
9	9.1	0.9	27	1.627
10	9.0	1.0	30	1.803

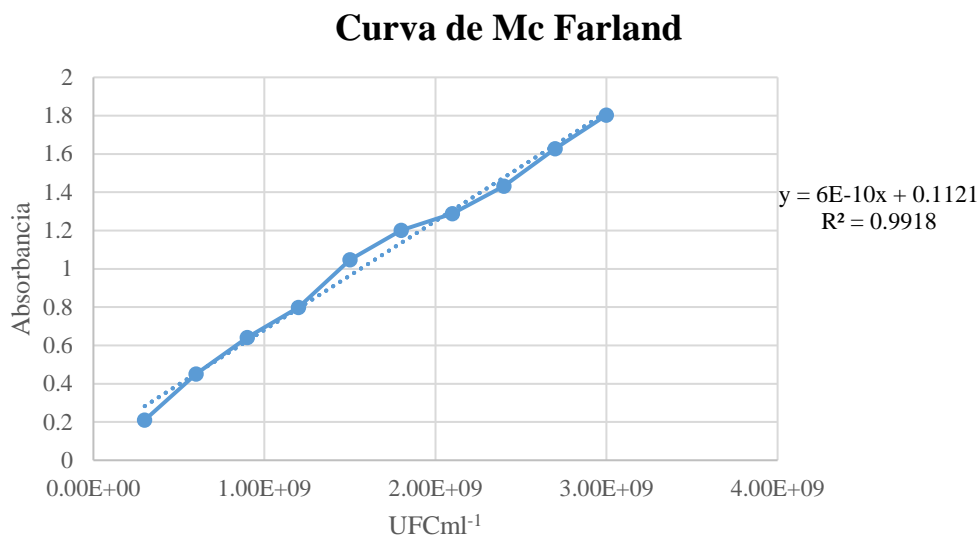


Figura 2. Curva de calibración y ajuste por el método de mínimos cuadrados de la escala de McFarland.

Para cada prueba se inocularon suspensiones ajustadas a una absorbancia de 1.0. Según los estándares de McFarland, la densidad final aproximada inoculada es de 14×10^8 UFC (mL)⁻¹. A partir de la ecuación de la recta que se obtuvo con los valores de McFarland a 600 nm, en las condiciones del equipo (espectrofotómetro) y entorno donde se realizaron las pruebas se tiene:

$$y = 6 \times 10^{-10} x + 0.1121 \dots [1]$$

Donde:

y= absorbancia

x=UFC mL⁻¹

6.4. Prueba de tolerancia a radiación UV

A continuación se muestran los resultados cualitativos de tolerancia a diferentes periodos de exposición a radiación UV, después de su incubación a 35°C en oscuridad por 48 h.

El 100% de los aislados de suelo rizosférico, es decir 22 de ellos, toleraron exposición de 0.5 h, 19 aislados 2 h, 17 aislados 6 h, 15 aislados 12 h y 11 aislados 24 h. Sólo 2 de los 8 aislados provenientes de suelo no rizosférico (sin vegetación) mostraron crecimiento después de 24 h de exposición, 4 aislados a 12 h, 6 aislados toleraron 6 h y 7 aislados 2 y 0.5 h. De los 30 aislados el 43% toleró exposición a radiación UV de 24 h.

Cuadro 6. Tolerancia de los 30 aislados bacterianos expuestos a radiación UV por diferentes periodos de tiempo. (+ = toleró/mostró crecimiento, - = no toleró/sin crecimiento)

Bacterias de suelo rizosférico		Tiempo de exposición a luz UV (h)				
Grupo	Aislado	0.5	2	6	12	24
I	P.3.1 bac 2	+	+	+	+	+
II	1.3.b.6	+	+	+	+	-
III	5.1.b.1	+	+	+	+	+
IV	p.8 bac 2	+	+	+	-	-
V	2.2.b.4	+	+	+	+	+
VII	9.1.b.1	+	+	+	+	+
VIII	5.2.b.2	+	+	+	+	+
XI	6.2.b.4	+	+	+	+	+
XIII	6.b.3	+	+	+	+	+
XIV	3.b.2	+	+	+	+	+
XV	4.2.b.3	+	+	+	+	+
XVI	4.2.b.1	+	-	-	-	-
XVIII	p.3.1.bac 1	+	+	+	+	-
XX	6.1.b.1	+	+	+	+	+
XXI	5.1.b.5	+	+	+	+	+
XXIII	1.3.b.4	+	+	+	+	-
XXVI	7.b.2	+	+	-	-	-
XXVIII	5.1.b.4	+	+	-	-	-
XXIX	p.8.1 bac 2	+	+	+	+	+
XXX	6.b.4	+	+	+	+	-
XXXI	8.1.b.4	+	+	+	+	+
XXXIII	4.2.b.4	+	+	+	-	-

















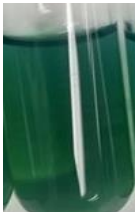

Bacterias de suelo no rizosférico		Tiempo de exposición a luz UV (h)				
Especie	Aislado	0.5	2	6	12	24
<i>Bacillus sp.</i>	A	+	+	+	+	-
<i>Pantonea agglomerans</i>	E	+	+	+	+	+
<i>Streptomyces sp.</i>	H	-	-	-	-	-
<i>Streptomyces sp</i>	N	+	+	+	+	+
<i>Streptomyces sp</i>	M	+	+	+	+	-
<i>Bacillus lincheniformis</i>	S1	+	+	+	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	S3	+	+	+	-	-
<i>Bacillus sp.</i>	U1	+	+	-	-	-






















6.5. Prueba de fijación de N₂






















Utilizando el medio semisólido malato-sacarosa con azul de bromotimol como indicador colorimétrico para la prueba de fijación de N₂, se comparó el cambio de color a partir del control después de 5 días de incubación anaeróbica en oscuridad.


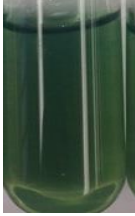



















De los 30 aislados, 17 mostraron un cambio de tono, indicando actividad de nitrogenasa anaeróbica (Croes *et al.*, 2014) de ellos, 7 aislados, 4 de suelo rizosférico (5.2.b.2, 5.1.b.4, 6.b.4 y 4.2.b.4) y 3 de suelo no rizosférico (E, S3 y U1) se tornaron amarillos, demostrando una mayor fijación de N₂ en comparación con el resto.










Cuadro 7. Comparación sobre el control después de la incubación en obscuridad por cinco días para la prueba de fijación de N₂. (+=hubo cambio de color; ++=se tornó amarilla; - = no hubo cambio).

Grupo	Aislado	Control negativo	Tratamiento (50 µL de inóculo)		Resultado
			Repetición 1	Repetición 2	
I	P.3.1 bac 2				+
II	1.3.b.6				-
III	5.1.b.1				+
IV	p.8 bac 2				+
V	2.2.b.4				+
VII	9.1.b.1				-

VIII	5.2.b.2				++
XI	6.2.b.4				-
XIII	6.b.3				+
XIV	3.b.2				-
XV	4.2.b.3				+
XVI	4.2.b.1				+
XVIII	p.3.1bac1				+

XX	6.1.b.1				-
XXI	5.1.b.5				-
XXIII	1.3.b.4				-
XXVI	7.b.2				-
XXVIII	5.1.b.4				++
XXIX	p.8.1 bac 2				-
XXX	6.b.4				++

XXXI	8.1.b.4				-
XXXIII	4.2.b.4				+
	A				-
	E				++
	H				-
	N				+
	M				+

S1				-
S3				++
U1				++

6.6. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico

Aquellos cultivos microbianos que después de 10 días de incubación en oscuridad generaron un halo transparente alrededor del pozo donde se inocularon se consideran positivos a la prueba de solubilización de fosfatos. Un resultado negativo es aquel que después de 10 días no mostró crecimiento bacteriano ni halo (Figura 3). De los 22 aislados de suelo rizosférico, 13 solubilizaron fosfatos y 5 de las 8 aislados de suelo no rizosférico también generaron un halo de solubilización siendo el aislado N el que presentó el mayor diámetro de halo (1.2 mm) (cuadro 8).

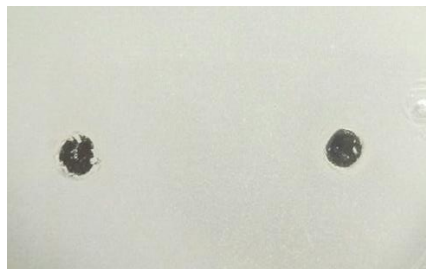




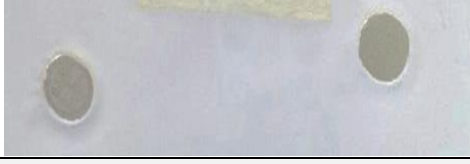


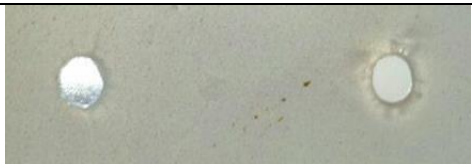




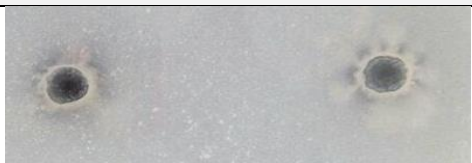


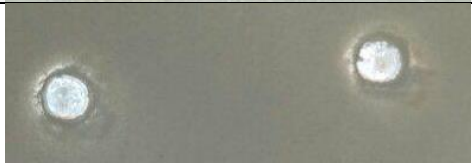



Figura 3. Medio NBRIP utilizado como control.

Cuadro 8. Prueba de solubilización de fosfato tricálcico de aislados bacterianos después de su incubación en oscuridad por diez días.

(+ = solubiliza fosfatos, - = no solubiliza/no se presentó el halo)

Grupo	Aislado bacteriano	Incubación por 10 Días	Resultado	Diámetro del halo transparente (mm)
I	P.3.1 bac 2		-	-
II	1.3.b.6		+	0.9
III	5.1.b.1		+	1.3
IV	p.8 bac 2		+	1.0
V	2.2.b.4		+	0.2
VII	9.1.b.1		+	0.2
VIII	5.2.b.2		-	-
XI	6.2.b.4		+	0.2
XIII	6.b.3		-	-
XIV	3.b.2		+	0.2
XV	4.2.b.3		-	-

XVI	4.2.b.1		+	1.0
XVIII	p.3.1.bac 1		-	
XX	6.1.b.1		-	
XXI	5.1.b.5		-	
XXIII	1.3.b.4			1
XXVI	7.b.2		+	0.1
XXVIII	5.1.b.4		+	1.1
XXIX	p.8.1 bac 2		-	
XXX	6.b.4		+	0.6
XXXI	8.1.b.4		-	
XXXIII	4.2.b.4		+	1.1
	A		-	-
	E			1.1
	H		+	1.0
	M		+	0.7

	N		+	1.2
	S1		-	-
	S3		-	-
	U1		-	-

6.7. Prueba de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos

Se midió la absorbancia del control (medio sin metal) y el triplicado de medio con metal, el pH aproximado del control y medio con metal luego de 48 h de incubación se indicó con tiras indicadoras de pH. Los 8 aislados bacterianos de suelo no rizosférico (A, E, H, N, M, S1, S3 y U1) se probaron a partir de las primeras concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) con motivo de hacer una comparación entre ellos y los aislados de suelo rizosférico.

Con base a la ecuación [1], se calculó el valor de UFC mL⁻¹ que creció en el medio con metal después de ser incubado en las condiciones antes mencionadas, así al superar la concentración inicial inoculada (aproximadamente de 4.2x10⁷ UFC mL⁻¹) se consideró que el aislado bacteriano toleró la presencia de metal a esa concentración y se aumentó hasta encontrar su CMI.

De los 22 aislados de suelo rizosférico el 95% y 50% toleraron concentraciones de Zn a 50 y 70 mg L⁻¹ respectivamente. De los aislados de suelo no rizosférico solo el 12% toleró Zn a 140 mg L⁻¹ y el 23% de suelo rizosférico creció a partir de esta concentración. Solo E, un aislado bacteriano de suelo no rizosférico, creció a una concentración de Zn a 280 mg L⁻¹ siendo Zn a 550 mg L⁻¹ la CMI mas alta.

El 68% de los aislados de suelo rizosférico toleró Cu a 25 mg L⁻¹. A una concentración de 35 mg L⁻¹ de Cu sólo el 38% de los aislados de suelo no rizosférico y 32% de suelo rizosférico mostraron tolerancia. Al añadir 50 mg L⁻¹ de Cu solo 9% es decir 2 aislados

toleraron esa concentración siendo también su CMI. El aislado E de suelo no rizosférico toleró Cu a 50 mg L^{-1} y de todos los aislados fue el único que creció a 75 mg L^{-1} de Cu siendo 100 mg L^{-1} la CMI más alta.

El Cd fue el elemento que presentó toxicidad a concentraciones más bajas. Para los aislados de suelo rizosférico se probó a partir de 40 mg L^{-1} disminuyendo a 20, 15, 10, 5 mg L^{-1} donde ninguno manifestó tolerancia. A 2.5 mg L^{-1} de Cd solamente el 14% de los 22 aislados de suelo rizosférico mostraron tolerancia. En contraste con los aislados de suelo no rizosférico donde el 88% creció a 2.5 mg L^{-1} de Cd, 50% a 5 mg L^{-1} , y el aislado E toleró hasta 10 mg L^{-1} siendo 20 mg L^{-1} su CMI.

El 100% de los aislados de suelo rizosférico toleró la presencia de Cr a 25 mg L^{-1} . A 35 mg L^{-1} el porcentaje de tolerancia disminuyó a 86% y solo el 59% creció a partir de 50 mg L^{-1} de Cr. Con una concentración de 75 mg L^{-1} de Cr en el medio, el 36% de los aislados de suelo rizosférico y 50% de suelo no rizosférico lograron crecer. El 14 y 25% de los aislados de suelo rizosférico y no rizosférico respectivamente toleraron 100 mg L^{-1} de Cr. Solo el 9% de los aislados de suelo rizosférico toleró 200 mg L^{-1} siendo ésta su CMI y un aislado de suelo no rizosférico (E) toleró esa concentración de Cr. El aislado E fue el único de todos los aislados que creció con la adición de 400 mg L^{-1} de Cr, siendo 600 mg L^{-1} la CMI más alta.

Las concentraciones de Sb fueron las más altas estudiadas en esta investigación. La prueba inició con la adición de 20 mg L^{-1} de Sb, donde el 55% de los aislados de suelo rizosférico mostró tolerancia. A partir de 50 mg L^{-1} de Sb solamente el 32% de los aislados de suelo rizosférico creció, donde, a la misma concentración el 88% de los aislados de suelo no rizosférico mostró tolerancia. El 19 y 50% de los aislados de suelo rizosférico y no rizosférico respectivamente toleraron la presencia de Sb a 100 mg L^{-1} . El 14% de los aislados de suelo rizosférico toleró 150 y 200 mg L^{-1} de Sb. Mientras que el porcentaje de tolerancia

a 150 y 200 mg L⁻¹ de Sb en aislados de suelo no rizosférico disminuyó de un 38% a un 25% respectivamente para cada concentración. A 300, 600, 1000, 2000 y 4000 mg L⁻¹ de Sb solo el aislado 6.b.3 de suelo rizosférico creció siendo 5000 mg L⁻¹ la CMI más alta. Y la CMI del aislado E de suelo no rizosférico fue de 600 mg L⁻¹.

El 73% de los aislados de suelo rizosférico toleró la presencia de 15 mg L⁻¹ de Pb. La adición de 30 mg L⁻¹ de Pb disminuyó el porcentaje de tolerancia de los aislados de suelo rizosférico a 50%, donde el 88% de los aislados de suelo no rizosférico creció. A una concentración de 60 mg L⁻¹ el 36 y 88% de los aislados de suelo rizosférico y no rizosférico respectivamente mostraron tolerancia. El 32% de los aislados de suelo rizosférico toleró 100 y 150 mg L⁻¹ de Pb, mientras que aquellos de suelo no rizosférico la tolerancia para estas concentraciones disminuyó de 63 a 38%. A una concentración de 300 y 600 mg L⁻¹ de Pb el 9% de los aislados de suelo rizosférico creció. En el caso de los aislados de suelo no rizosférico, a 300 mg L⁻¹ el porcentaje de aislados que mostró tolerancia se mantuvo en 38%. Al aumentar la concentración de Pb a 600 mg L⁻¹ sólo creció el aislado M. A una concentración de 900 mg L⁻¹ en el medio, se encontró la CMI para el aislado M de suelo no rizosférico y los aislados p.3.1bac1 y 4.2.b.4 de suelo rizosférico aumentan el pH lo suficiente (aproximadamente a 9) para crecer sin presencia del metal al precipitarlo completamente después de las 48 h de incubación.

En presencia de Al el 100% de los aislados bacterianos de suelo rizosférico creció en contacto de 20 mg L⁻¹ de este metal. El 95% de los aislados de suelo rizosférico y el 88% de suelo no rizosférico toleraron 50 mg L⁻¹ de Al. El 36% de los aislados de suelo rizosférico toleró 100 y 150 mg L⁻¹ de Al, en el caso de los aislados de suelo no rizosférico para estas concentraciones el porcentaje de tolerancia fue de 38%. Mismos aislados de suelo no

rizosférico toleraron 300 mg L⁻¹ de Al, la tolerancia para los aislados de suelo rizosférico a esta concentración fue de 32%.

Cuadro 9. Tolerancia a Al en caldo R2A con 20 mg L⁻¹ de Al como Al₂(SO₃)₃ pH_{inicial} = 5.5

Al 20 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	0.427	0.292	2.99E+08	+
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 7	0.6	0.729	1.03E+09	+
III	5.1.b.1	≈ 7	≈ 6	0.612	0.627	8.59E+08	+
IV	p.8 bac 2	≈ 7.5	≈ 6	1.117	1.057	1.57E+09	+
V	2.2.b.4	≈ 6.5	≈ 6.5	0.644	0.419	5.12E+08	+
VII	9.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7.5	1.314	1.111	1.66E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈ 8	≈ 7.5	1.305	1.333	2.03E+09	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 7	0.79	0.719	1.01E+09	+
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 7	1.432	1.081	1.61E+09	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6.5	0.687	0.275	2.72E+08	+
XV	4.2.b.3	≈ 7	≈ 7	0.777	0.948	1.39E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈ 6.5	≈ 5	0.816	0.821	1.18E+09	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 7	≈ 7.5	0.713	1.391	2.13E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 7.5	≈ 6.5	1.507	0.464	5.86E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈ 6.5	≈ 6.5	0.604	0.451	5.65E+08	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 7.5	≈ 6.5	0.638	0.473	6.02E+08	+
XXVI	7.b.2	≈ 7	≈ 7.5	0.866	0.786	1.12E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 6.5	0.916	0.684	9.53E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7	≈ 6.5	0.912	0.693	9.68E+08	+
XXX	6.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.772	0.419	5.11E+08	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.498	0.576	7.74E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 6.5	1.157	0.564	7.53E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 10. Tolerancia a Al en caldo R2A con 50 mg L⁻¹ de Al como Al₂(SO₃)₃ pH_{inicial} = 5.5

Al 50 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 7	0.628	1.010	1.50E+09	+
II	1.3.b.6	≈ 8	≈ 7	0.804	1.047	1.56E+09	+
III	5.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7	1.132	0.917	1.34E+09	+
IV	p.8 bac 2	≈ 7.5	≈ 6	1.054	0.732	1.03E+09	+
V	2.2.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.796	0.512	6.67E+08	+
VII	9.1.b.1	≈ 7	≈ 7	1.608	1.067	1.59E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈ 7.5	≈ 7.5	1.252	1.209	1.83E+09	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 7	1.22	1.222	1.85E+09	+
XIII	6.b.3	≈ 6.5	≈ 6.5	0.775	0.386	4.56E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 7	1.052	1.389	2.13E+09	+
XV	4.2.b.3	≈ 6.5	≈ 6.5	0.715	0.712	1.00E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈ 7.5	≈ 6	1.279	0.512	6.67E+09	+

XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 7.5	≈ 7	1.075	1.116	1.67E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 7	≈ 7	1.066	0.835	1.20E+09	+
XXI	5.1.b.5	≈ 8	≈ 6	0.84	0.763	1.09E+09	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 7	≈ 6	1.242	0.170	9.71E+07	-
XXVI	7.b.2	≈ 6.5	≈ 6.5	0.492	0.375	4.38E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 6.5	≈ 6.5	0.897	0.563	7.52E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 8	≈ 6	1.3	0.382	4.49E+08	+
XXX	6.b.4	≈ 7.5	≈ 6	0.624	1.063	1.59E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 6	≈ 6	0.917	0.682	9.50E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 6.5	≈ 6.5	0.871	0.614	8.37E+08	+
	A	≈ 6	≈ 6	0.750	0.114	2.61E+06	-
	E	≈ 6.5	≈ 6.5	0.834	0.453	5.69E+08	+
	H	≈ 7	≈ 6.5	1.052	1.098	1.64E+09	+
	M	≈ 6.5	≈ 6.5	0.884	0.687	9.58E+08	+
	N	≈ 7	≈ 6.5	1.011	1.026	1.52E+09	+
	S1	≈ 7	≈ 6	1.305	1.110	1.66E+09	+
	S3	≈ 6.5	≈ 6	0.874	0.536	7.07E+08	+
	U1	≈ 6	≈ 6	0.523	0.582	7.83E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 11. Tolerancia a Al en caldo R2A con 100 mgL⁻¹ de Al como Al₂(SO₃)₃ pH_{inicial} = 5.5

Al 100 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	0.724	0.174	1.04E+08	-
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 6	1.075	0.127	2.54E+07	-
III	5.1.b.1	≈ 6.5	≈ 6.5	0.766	0.439	5.44E+08	+
IV	p.8 bac 2	≈ 7.5	≈ 6	1.024	0.353	4.01E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.658	0.325	3.54E+08	+
VII	9.1.b.1	≈ 7	≈ 6.5	1.009	0.573	7.69E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 7	≈ 6.5	1.62	1.069	1.59E+09	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.313	0.154	6.98E+07	-
XIII	6.b.3	≈ 6.5	≈ 6	0.482	0.108	-6.28E+08	-
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6.5	1.996	0.510	6.63E+08	+
XV	4.2.b.3	≈ 7	≈ 6	1.38	0.155	7.09E+07	-
XVI	4.2.b.1	≈ 6.5	≈ 6	0.875	0.194	1.37E+08	-
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 7	≈ 7	1.111	1.237	1.88E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 7	≈ 6	0.816	0.146	5.71E+07	-
XXI	5.1.b.5	≈ 7	≈ 6	1.464	0.099	-2.24E+07	-
XXVI	7.b.2	≈ 7	≈ 6	0.794	0.473	6.01E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 6	1.053	0.174	1.04E+08	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	0.85	0.154	7.04E+07	-
XXX	6.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.656	0.140	4.71E+07	-
XXXI	8.1.b.4	≈ 6.5	≈ 6	1.007	0.116	7.06E+06	-
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7.5	≈ 6	0.499	0.222	1.83E+08	+
	E	≈ 6.5	≈ 6	0.756	0.379	4.44E+08	+
	H	≈ 6.5	≈ 6	0.513	0.308	3.27E+08	+
	M	≈ 7.5	≈ 6	1.064	0.372	4.33E+08	+
	N	≈ 6.5	≈ 6	0.839	0.183	1.18E+08	-
	S1	≈ 6	≈ 6	0.553	0.122	1.59E+07	-
	S3	≈ 7.5	≈ 6	1.355	0.123	1.76E+07	-
	U1	≈ 6.5	≈ 6	0.862	0.155	7.09E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 12. Tolerancia a Al en caldo R2A con 150 mgL⁻¹ de Al como Al₂(SO₃)₃ pH_{inicial} = 5.5

Al 150 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
III	5.1.b.1	≈ 6.5	≈ 6.5	0.412	0.583	7.84E+08	+
IV	p.8 bac 2	≈ 8	≈ 6.5	1.484	0.622	8.49E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 7.5	≈ 6.5	1.379	0.405	4.88E+08	+
VII	9.1.b.1	≈ 7.5	≈ 6	1.315	0.479	6.11E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 8	≈ 6	1.413	0.492	6.33E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 8	≈ 6	1.365	0.641	8.81E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 8	≈ 6	1.175	0.312	3.33E+08	+
XXVI	7.b.2	≈ 7.5	≈ 6	1.331	0.298	3.09E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 6	≈ 6	0.417	0.104	-1.29E+07	-
	E	≈ 6.5	≈ 6	0.815	0.302	3.17E+08	+
	H	≈ 7	≈ 6	0.891	0.235	2.00E+08	+
	M	≈ 6.5	≈ 6	0.985	0.302	3.17E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 13. Tolerancia a Al en caldo LB 1:10 con 300 mgL⁻¹ de Al como Al₂(SO₃)₃ pH_{inicial} = 5.5

Al 300 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
III	5.1.b.1	≈ 5	≈ 5	0.423	0.382	4.50E+08	+
IV	p.8 bac2	≈ 5	≈ 5	0.786	0.310	3.30E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 5	≈ 5	0.619	0.117	5.67E+07	+
VII	9.1.b.1	≈ 5	≈ 5	0.569	0.223	1.84E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 5	≈ 5	0.864	0.344	3.32E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 5	≈ 5	1.107	0.495	5.16E+08	+
XVIII	p.3.1bac1	≈ 5	≈ 5	0.628	0.271	2.45E+08	+
	7.b.2	≈ 5	≈ 5	0.568	0.289	2.95E+08	+
	E	≈ 6	≈ 5	1.901	0.696	7.60E+08	-
	H	≈ 5	≈ 5	0.875	0.319	3.45E+08	+
	M	≈ 5	≈ 5	0.375	0.235	2.01E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 14. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 2.5 mgL⁻¹ de Cd como (CdSO₄) pH_{inicial} = 6

Cd 2.5 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	1.317	0.197	1.42E+08	-
II	1.3.b.6	≈ 8	≈ 6	0.804	0.076	-6.07E+07	-
III	5.1.b.1	≈ 7	≈ 6	1.424	0.316	3.40E+08	-

IV	p.8 bac 2	≈7.5	≈6	1.048	0.267	2.59E+08	-
V	2.2.b.4	≈7.5	≈6.5	0.78	0.522	6.83E+08	+
VII	9.1.b.1	≈7	≈6	0.899	0.351	3.98E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈8	≈6	1.305	0.106	-9.61E+06	-
XI	6.2.b.4	≈7	≈6	1.22	0.134	3.65E+07	-
XIII	6.b.3	≈7	≈6	1.534	0.148	5.93E+07	-
XIV	3.b.2	≈7	≈6	0.687	0.162	8.26E+07	-
XV	4.2.b.3	≈8	≈6	0.777	0.111	-1.28E+06	-
XVI	4.2.b.1	≈8	≈6	0.969	0.890	1.30E+09	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈7.5	≈6	1.417	0.286	2.90E+08	-
XX	6.1.b.1	≈8	≈6	1.139	0.243	2.18E+08	-
XXI	5.1.b.5	≈8	≈6	0.84	0.105	-1.18E+07	-
XXIII	1.3.b.4	≈7.5	≈6	0.638	0.109	-4.61E+06	-
XXVI	7.b.2	≈8	≈6	1.699	0.392	4.67E+06	-
XXVIII	5.1.b.4	≈7	≈6	1.09	0.225	1.88E+08	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7.5	≈6	1.037	0.189	1.28E+08	-
XXX	6.b.4	≈7	≈6	1.384	0.186	1.23E+08	-
XXXI	8.1.b.4	≈7.5	≈6	0.875	0.216	1.73E+07	-
XXXIII	4.2.b.4	≈7.5	≈6	1.042	0.105	-1.18E+07	-
	A	≈7	≈6	1.333	0.348	3.93E+08	+
	E	≈7	≈6	0.834	0.200	1.47E+08	+
	H	≈7	≈6	1.052	0.285	2.88E+08	+
	M	≈6.5	≈6	0.884	0.513	6.69E+08	+
	N	≈7	≈6	1.011	0.295	3.05E+08	+
	S1	≈7	≈6	1.305	0.098	-2.41E+07	-
	S3	≈6.5	≈6	0.874	0.310	3.30E+08	+
	U1	≈6.5	≈6	0.763	0.396	4.73E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 15. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 5 mgL⁻¹ de Cd como (CdSO₄) pH_{inicial} =6

Cd 5 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
V	2.2.b.4	≈7	≈6	0.812	0.100	-2.07E+07	-
VII	9.1.b.1	≈7	≈6	0.908	0.113	9.44E+05	-
XVI	4.2.b.1	≈7	≈6	0.884	0.108	-6.28E+06	-
	A	≈7	≈6	1.003	0.097	-2.52E+07	-
	E	≈7	≈6	1.028	0.530	6.97E+08	+
	H	≈6	≈6	0.513	0.124	2.04E+07	-
	M	≈7	≈6	1.126	0.327	3.58E+08	+
	N	≈6.5	≈6	0.839	0.108	-6.28E+06	-
	S3	≈7	≈6	1.005	0.354	4.03E+08	+
	U1	≈7	≈6	0.981	0.289	2.95E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 16. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 10 mgL⁻¹ de Cd como (CdSO₄) pH_{inicial} =6

Cd 10 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
	E	≈7	≈7	1.115	0.305	3.22E+08	+

	M	≈7	≈6	0.927	0.105	-4.61E+06	-
	S3	≈8	≈6	1.077	0.100	-2.02E+07	-
	U1	≈6	≈6	0.648	0.102	-1.63E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 17. Tolerancia a Cd en caldo R2A con 20 mg L⁻¹ de Cd como (CdSO₄) pH_{inicial} =6

Cd 20 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
	E	≈6	≈6	0.720	0.095	-2.91E+07	-

Cuadro 18. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 25 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial} =6

Cr 25 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	1.267	0.472	5.99E+08	+
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 6.5	0.6	0.624	8.54E+08	+
III	5.1.b.1	≈ 8	≈ 7	1.732	0.950	1.40E+09	+
IV	p.8 bac 2	≈ 6.5	≈ 7	0.735	0.587	7.91E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 7.5	≈ 7	0.708	0.957	1.41E+09	+
VII	9.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7	0.729	0.628	8.59E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 8	≈ 7	1.137	0.343	3.84E+08	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6.5	0.79	0.585	7.88E+08	+
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 6.5	1.534	1.311	2.00E+09	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6.5	0.687	0.395	4.72E+08	+
XV	4.2.b.3	≈ 7.5	≈ 7.5	0.896	1.368	2.09E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈ 7	≈ 7	1.009	0.733	1.04E+09	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 7.5	≈ 8	1.294	1.079	1.61E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 8	≈ 7.5	0.996	1.066	1.59E+09	+
XXI	5.1.b.5	≈ 7	≈ 6	1.31	0.235	2.05E+08	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 8.5	≈ 7	1.459	1.314	2.00E+09	+
XXVI	7.b.2	≈ 8	≈ 8	1.516	0.907	1.32E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 7	1.481	1.007	1.49E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7	≈ 6.5	0.798	0.463	5.85E+08	+
XXX	6.b.4	≈ 8	≈ 7.5	1.935	1.575	2.44E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 6.5	≈ 6.5	0.866	0.784	1.12E+09	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 7.5	1.042	1.358	2.08E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 19. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 35 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial}=6

Cr 35 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 6.5	≈ 6	0.875	0.122	1.71E+07	-
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 6	0.804	0.258	2.43E+08	+
III	5.1.b.1	≈ 7	≈ 6.5	1.023	0.645	8.88E+08	+
IV	p.8 bac 2	≈ 8	≈ 6	1.754	0.754	1.07E+09	+
V	2.2.b.4	≈ 6	≈ 6	0.812	0.818	1.18E+09	+
VII	9.1.b.1	≈ 7	≈ 7	1.023	1.467	2.26E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈ 6.5	≈ 6.5	0.867	0.451	5.65E+08	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.22	0.217	1.75E+08	-
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 6.5	1.432	0.524	6.86E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6.5	0.687	0.245	2.22E+08	+
XV	4.2.b.3	≈ 6.5	≈ 6	0.777	0.240	2.13E+08	+
XVI	4.2.b.1	≈ 7.5	≈ 6.5	1.176	0.601	8.15E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 8	≈ 7	1.699	1.224	1.85E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 8	≈ 7	1.139	1.246	1.89E+09	+
XXI	5.1.b.5	≈ 7	≈ 6	1.2	0.110	-3.50E+06	-
XXIII	1.3.b.4	≈ 7.5	≈ 6.5	1.433	0.772	1.10E+09	+
XXVI	7.b.2	≈ 7.5	≈ 6	1.214	0.560	7.46E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 6	0.916	0.582	7.83E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 6.5	≈ 6	0.739	0.550	7.30E+08	+
XXX	6.b.4	≈ 7	≈ 6.5	1.384	0.807	1.16E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 7	≈ 6	1.17	0.578	7.77E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.562	0.685	9.55E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inóculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 20. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 50 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial}=6

Cr 50 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
III	1.3.b.6	≈ 7	≈ 6	1.075	0.100	-2.07E+07	-
III	5.1.b.1	≈ 7	≈ 6.5	1.114	0.842	1.22E+09	+
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 6.5	0.483	0.528	6.94E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 8	≈ 7	1.234	1.253	1.90E+09	+
VII	9.1.b.1	≈ 7	≈ 7	0.899	0.866	1.26E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈ 7	≈ 7	0.92	0.962	1.42E+09	+
XIII	6.b.3	≈ 7.5	≈ 6	0.807	0.146	5.59E+07	-
XVI	3.b.2	≈ 7	≈ 6	1.052	0.178	1.09E+08	-
XV	4.2.b.3	≈ 7	≈ 6	0.715	0.176	1.07E+08	-
XVI	4.2.b.1	≈ 7	≈ 6.5	0.852	0.664	9.19E+08	+
XVIII	P.3.1.bac1	≈ 7	≈ 7	1.711	1.818	2.84E+09	+
XX	6.1.b.1	≈ 7	≈ 6.5	1.825	0.536	7.07E+08	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 7.5	≈ 6	0.638	0.122	1.59E+07	-
XXVI	7.b.2	≈ 7	≈ 6	1.385	0.352	4.00E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 6	0.637	0.145	5.48E+07	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7.5	≈ 7	1.138	0.816	1.17E+09	+
XXX	6.b.4	≈ 7	≈ 7	0.772	0.582	7.84E+08	+

XXXI	8.1.b.4	≈ 7	≈ 6	1.143	0.550	7.30E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 6	0.871	0.387	4.59E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 21. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 75 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial}=6

Cr 75 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
III	5.1.b.1	≈7.5	≈6.5	1.347	0.331	3.65E+08	+
IV	p.8 bac 2	≈8	≈6	1.936	0.348	3.94E+08	+
V	2.2.b.4	≈7	≈6	0.644	0.107	-7.94E+06	-
VII	9.1.b.1	≈8	≈7	1.314	0.807	1.16E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈7.5	≈6.5	1.349	0.697	9.75E+08	+
XIV	3.b.2	≈7.5	≈6	1.362	0.159	7.87E+07	-
XVI	4.2.b.1	≈8	≈7	1.264	1.019	1.51E+09	+
XXVIII	p.3.1.bac1	≈7	≈6	0.713	0.112	3.89E+05	-
XX	6.1.b.1	≈7.5	≈6.5	1.507	0.521	6.82E+08	+
XXVI	7.b.2	≈7	≈6	0.866	0.109	-4.61E+06	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7	≈6.5	1.203	0.471	5.99E+08	+
XXX	6.b.4	≈6.5	≈6	0.624	0.252	2.33E+08	+
XXXI	8.1.b.4	≈6.5	≈6	0.498	0.113	1.50E+06	-
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈6	1.056	0.137	4.21E+07	-
	A	≈7	≈6	1.333	0.225	1.88E+08	+
	E	≈6	≈6	0.834	0.522	6.83E+08	+
	H	≈7	≈6	1.052	0.350	3.97E+08	+
	M	≈6.5	≈6	0.884	0.099	-2.13E+07	-
	N	≈7	≈6	1.011	0.598	8.10E+08	+
	S1	≈7	≈6	1.305	0.121	1.48E+07	-
	S3	≈6.5	≈6	0.874	0.150	6.32E+07	-
	U1	≈6.5	≈6	0.763	0.128	2.71E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 22. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 100 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial}=6

Cr 100 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
III	5.1.b.1	≈6	≈ 6	0.628	0.115	4.83E+06	-
IV	p.8.bac 2	≈8	≈ 6.5	1.484	0.360	4.13E+08	+
VII	9.1.b.1	≈7	≈ 6.5	1.322	0.894	1.30E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈7	≈ 6	1.305	0.719	1.01E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈7	≈ 6	1.099	0.128	2.59E+07	-
XX	6.1.b.1	≈ 7.5	≈ 6	1.066	0.117	8.17E+06	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7	≈ 6	0.912	0.121	1.48E+07	-
XXX	6.b.4	≈7	≈ 6	1.34	0.128	2.71E+07	-
	A	≈7	≈ 6	1.003	0.105	-1.13E+07	-
	E	≈7	≈ 6	1.301	1.278	1.94E+09	+
	H	≈6	≈ 6	0.513	0.218	2.07E+08	+

	N	≈6.5	≈ 6	0.839	0.126	-1.83E+06	-
--	---	------	-----	-------	-------	-----------	---

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 23. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 200 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial} =6

Cr 200 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
IV	p. 8 bac2	≈7	≈ 6	1.478	0.119	1.15E+07	-
VII	9.1.b.1	≈7	≈ 6.5	1.608	1.183	1.78E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈7.5	≈ 6.5	1.62	1.059	1.58E+09	+
	E	≈7	≈ 6	1.115	0.225	1.88E+08	+
	H	≈7	≈ 6	0.891	0.099	-2.13E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 24. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 400 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial} =6

Cr 400 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
VII	9.1.b.1	≈7	≈ 6	1.513	0.149	6.09E+07	-
VIII	5.2.b.2	≈7.5	≈ 6.5	1.413	0.146	5.71E+07	-
	E	≈6	≈ 6.5	0.720	0.511	6.65E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 25. Tolerancia a Cr en caldo R2A con 600 mg L⁻¹ de Cr como (K₂Cr₂O₇) pH_{inicial} =6

Cr 600 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
	E	≈6	≈ 6	0.588	0.134	3.71E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 26. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 25 mg L⁻¹ de Cu como (CuSO₄) pH_{inicial} = 6

Cu 25 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 8.5	≈ 7.5	0.968	0.617	8.41E+08	+
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 6.5	0.576	0.392	4.67E+08	+
III	5.1.b.1	≈ 8	≈ 6	0.946	0.153	6.82E+07	-
IV	p.8 bac 2	≈ 7.5	≈ 7.5	1.71	1.175	1.77E+09	+
V	2.2.b.4	≈ 7.5	≈ 7	0.78	0.970	1.43E+09	+
VII	9.1.b.1	≈ 7.5	≈ 6.5	0.729	0.154	7.04E+07	-
VIII	5.2.b.2	≈ 8	≈ 6.5	1.679	0.510	6.63E+08	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6	0.79	0.302	3.17E+08	+
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 6.5	1.534	1.588	2.46E+09	+
XIV	3.b.2	≈ 8	≈ 7	1.795	0.734	1.04E+09	+
XV	4.2.b.3	≈ 7	≈ 6.5	0.785	0.576	7.74E+08	+
XVI	4.2.b.1	≈ 8	≈ 6.5	1.388	0.379	4.45E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 8.5	≈ 6	1.514	0.183	1.18E+08	-
XX	6.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7	0.773	0.495	6.38E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈ 8	≈ 8	1.2	1.789	2.80E+09	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 7	≈ 6	1.242	0.116	7.06E+06	-
XXVI	7.b.2	≈ 8.5	≈ 7	1.383	0.649	8.95E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 8	≈ 6	1.267	0.215	1.71E+08	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	0.985	0.155	7.21E+07	-
XXX	6.b.4	≈ 8	≈ 6	1.735	0.208	1.60E+08	-
XXXI	8.1.b.4	≈ 8.5	≈ 8	1.284	1.079	1.61E+09	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 8	≈ 8	1.553	1.065	1.59E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inóculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 27. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 35 mg L⁻¹ de Cu como (CuSO₄) pH_{inicial} = 6

Cu 35 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7.5	≈ 6	1.267	0.206	1.57E+08	-
II	1.3.b.6	≈ 8	≈ 6	0.804	0.120	1.26E+07	-
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 6.5	0.735	0.521	6.82E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 8	≈ 6	0.812	0.239	2.12E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 7	≈ 6	0.6	0.196	1.40E+08	-
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 6.5	1.432	0.443	5.51E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6	0.687	0.150	3.26E+07	-
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.22	0.144	5.37E+07	-
XV	4.2.b.3	≈ 7.5	≈ 6	0.777	0.106	-1.02E+07	-
XVI	4.2.b.1	≈ 7.5	≈ 6	0.879	0.137	4.15E+07	-
XX	6.1.b.1	≈ 6	≈ 6	1.281	0.375	4.38E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈ 7.5	≈ 6.5	1.261	0.478	6.10E+08	+
XXVI	7.b.2	≈ 7.5	≈ 6	1.064	0.253	2.35E+08	-
XXXI	8.1.b.4	≈ 7	≈ 6	0.901	0.206	1.57E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.042	0.176	1.07E+08	-
	A	≈ 7	≈ 6	1.333	0.102	-1.74E+07	-
	E	≈ 6	≈ 6	0.834	0.396	4.73E+08	+

	H	≈ 7	≈ 6	0.513	0.231	1.99+08	+
	M	≈ 6.5	≈ 6	0.884	0.103	-1.52E+07	-
	N	≈ 7	≈ 6	1.011	0.638	8.77E+08	+
	S1	≈ 7	≈ 6	1.079	0.114	2.61E+06	-
	S3	≈ 6.5	≈ 6	0.874	0.137	4.15E+07	-
	U1	≈ 6	≈ 6	0.763	0.105	-1.41E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 28. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 50 mgL⁻¹ de Cu como (CuSO₄) pH_{inicial} =6

Cu 50 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 6.5	0.735	0.343	3.85E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 8	≈ 6	1.241	0.119	1.09E+07	-
XIII	6.b.3	≈ 8	≈ 6	0.807	0.110	-4.06E+06	-
XX	6.1.b.1	≈ 7	≈ 6.5	1.499	0.954	1.40E+09	+
XXI	5.1.b.5	≈ 8	≈ 6.5	1.31	0.180	1.13E+08	-
XXVI	7.b.2	≈ 7	≈ 6	1.216	0.188	1.27E+08	-
XXXI	8.1.b.4	≈ 7	≈ 6	0.866	0.151	6.54E+07	-
	H	≈ 7	≈ 6	0.891	0.116	5.94E+06	-
	E	≈ 7	≈ 6	1.115	0.322	3.49E+08	+
	N	≈ 7	≈ 6	0.839	0.101	-1.85E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 29. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 75 mgL⁻¹ de Cu como (CuSO₄) pH_{inicial} =6

Cu 75 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 6	1.164	0.120	1.37E+07	-
XX	6.1.b.1	≈ 7	≈ 6	1.216	0.121	1.48E+07	-
	E	≈ 7	≈ 6	0.715	0.538	7.10E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 30. Tolerancia a Cu en caldo R2A con 100 mgL⁻¹ de Cu como (CuSO₄) pH_{inicial} =6

Cu 100 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
	E	≈ 6	≈ 6	0.588	0.108	-6.83E+06	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 31. Tolerancia de Pb en caldo R2A con 15 mg L⁻¹ de Pb como Pb(NO₃)₂ Ph_{inicial} = 5.5

Pb 15 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈7	≈6	1.496	0.198	1.43E+08	-
II	1.3.b.6	≈7	≈6.5	0.6	0.406	4.90E+08	+
III	5.1.b.1	≈7	≈6	1.424	0.219	1.78E+08	-
IV	p.8 bac 2	≈7	≈6.5	1.557	0.315	3.38E+08	-
V	2.2.b.4	≈7.5	≈6	0.78	0.143	5.15E+07	-
VII	9.1.b.1	≈7	≈7	0.899	0.866	1.26E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈8	≈6	1.305	0.079	-5.59E+07	-
XI	6.2.b.4	≈7	≈6	0.79	0.424	5.20E+08	+
XIII	6.b.3	≈7	≈7	1.534	1.445	2.22E+09	+
XIV	3.b.2	≈7	≈6.5	0.687	0.222	1.83E+08	+
XV	4.2.b.3	≈7.5	≈7	1.58	0.579	7.79E+08	+
XVI	4.2.b.1	≈7	≈6	1.351	0.157	7.48E+07	-
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈7	1.59	1.643	2.55E+09	+
XX	6.1.b.1	≈8	≈7	1.139	1.323	2.02E+09	+
XXI	5.1.b.5	≈7	≈6	0.604	0.760	1.08E+09	+
XXIII	1.3.b.4	≈7.5	≈7	1.433	1.178	1.78E+09	+
XXVI	7.b.2	≈8	≈7	1.3	1.485	2.29E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈8	≈7	1.324	1.484	2.29E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7.5	≈7.5	1.037	0.794	1.14E+09	+
XXX	6.b.4	≈7	≈7	1.384	1.400	2.15E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈7	≈7	0.935	0.890	1.30E+09	+
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈7	1.042	1.061	1.58E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inóculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 32. Tolerancia de Pb en caldo R2A con 30 mg L⁻¹ de Pb como Pb(NO₃)₂ Ph_{inicial} = 5.5

Pb 30 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
II	1.3.b.6	≈8	≈7	0.804	0.567	7.58E+08	+
VII	9.1.b.1	≈7.5	≈6	1.322	0.171	9.82E+07	-
XI	6.2.b.4	≈7.5	≈6	1.313	0.321	3.48E+08	+
XIII	6.b.3	≈6.5	≈6	0.775	0.150	6.32E+07	-
XIV	3.b.2	≈7	≈6	1.052	1.408	2.16E+09	+
XV	4.2.b.3	≈6.5	≈6	0.536	0.486	6.24E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈7	≈7	0.921	0.923	1.35E+09	+
XX	6.1.b.1	≈7	≈6	1.066	0.142	4.98E+07	-
XXI	5.1.b.5	≈8	≈7	0.84	0.893	1.30E+09	+
XXIII	1.3.b.4	≈7	≈6	1.242	0.139	4.48E+07	-
XXVI	7.b.2	≈6.5	≈6	0.492	0.479	6.11E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈6.5	≈6	0.897	0.330	3.63E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7	≈6	0.912	0.475	6.05E+08	+
XXX	6.b.4	≈6.5	≈6.5	0.774	0.497	6.41E+08	+
XXXI	8.1.b.4	≈7	≈6	0.498	0.122	1.59E+07	-
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈7	0.647	0.614	8.36E+08	+
	A	≈7	≈6	1.333	0.102	-1.63E+07	-

	E	≈6.5	≈6.5	0.834	0.398	4.61E+08	+
	H	≈7	≈6.5	1.052	0.334	3.69E+08	+
	M	≈6.5	≈6.5	0.884	0.767	1.09E+09	+
	N	≈7	≈6.5	1.011	0.291	2.98E+08	+
	S1	≈7	≈6.5	1.305	0.732	1.03E+09	+
	S3	≈6.5	≈7	0.74	0.900	1.31E+09	+
	U1	≈6.5	≈7	0.763	0.884	1.29E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 33. Tolerancia de Pb en caldo R2A con 60 mg L⁻¹ de Pb como Pb(NO₃)₂ Ph_{inicial} = 5.5

Pb 60 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
II	1.3.b.6	≈7	≈6	1.075	0.124	1.93E+07	-
XI	6.2.b.4	≈7	≈6	0.828	0.386	4.56E+08	+
XIV	3.b.2	≈8	≈7.5	1.596	1.262	1.92E+09	+
XV	4.2.b.3	≈6	≈7	0.572	0.964	1.42E+09	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈8	1.111	1.536	2.37E+07	+
XXI	5.1.b.5	≈7	≈6	0.864	0.132	3.37E+07	-
XXVI	7.b.2	≈7	≈7	0.794	0.705	9.88E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈8	≈8	1.053	0.978	1.44E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7.5	≈8	0.85	1.064	1.59E+09	+
XXX	6.b.4	≈7	≈6	0.656	0.143	5.15E+07	-
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈7	0.832	0.427	5.25E+08	+
	E	≈7	≈7	1.301	0.909	1.33E+09	+
	H	≈6	≈7	0.513	0.309	3.28E+08	+
	M	≈6.5	≈7	0.985	0.616	8.40E+08	+
	N	≈6.5	≈7	0.839	0.658	9.10E+08	+
	S1	≈6.5	≈7	0.738	1.072	1.60E+09	+
	S3	≈7	≈6.5	1.005	0.448	5.60E+08	+
	U1	≈7	≈7	0.862	0.763	1.08E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 34. Tolerancia de Pb en caldo R2A con 100 mg L⁻¹ de Pb como Pb(NO₃)₂ Ph_{inicial} = 5.5

Pb 100 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XI	6.2.b.4	≈6	≈8	0.656	0.994	1.47E+09	+
XIV	3.b.2	≈8	≈8	0.606	0.933	1.37E+09	+
XV	4.2.b.3	≈6	≈6	0.731	0.127	2.43E+07	-
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈8	1.175	0.818	1.18E+09	+
XXVI	7.b.2	≈7	≈7	0.932	0.398	4.77E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈8	≈7	1.311	0.589	7.95E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈8	≈7	1.3	0.554	7.36E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈7	0.499	0.802	1.15E+09	+
	E	≈7	≈5.5	0.998	0.150	6.32E+07	-
	H	≈7	≈6	0.618	0.899	1.31E+09	+

	M	≈7.5	≈7	1.321	0.877	1.27E+09	+
	N	≈7.5	≈7	1.075	0.737	1.04E+09	+
	S1	≈6.5	≈6	0.908	0.120	1.26E+07	-
	S3	≈6	≈7	0.544	0.823	1.19E+09	+
	U1	≈6	≈6	0.891	0.756	1.07E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 35. Tolerancia a Pb en caldo LB 1:10 con 150 mgL⁻¹ de Pb como Pb(C₂H₃O₂)₂.3H₂O Ph_{inicial} =7.5

Pb 150 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XI	6.2.b.4	≈7	≈7	0.987	0.905	1.32E+09	+
XIV	3.b.2	≈7	≈7	1.072	0.430	5.30E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈7.5	≈7	0.884	0.694	9.70E+08	+
XXVI	7.b.2	≈7	≈7	1.107	0.375	4.38E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈7	≈7	1.506	0.514	6.69E+08	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈7.5	≈7	1.606	0.349	3.94E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈7.5	≈7	1.336	0.848	1.23E+09	+
	H	≈7.5	≈7	0.881	0.365	4.22E+08	+
	M	≈7.5	≈7	1.681	1.039	1.54E+09	+
	N	≈7	≈7	1.109	0.151	6.54E+07	-
	S3	≈7	≈7	0.587	0.881	1.28E+09	+
	U1	≈7	≈7	0.467	0.105	-1.13E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 36. Tolerancia a Pb en caldo LB 1:2 con 300 mgL⁻¹ de Pb como Pb(C₂H₃O₂)₂.3H₂O Ph_{inicial} =6

Pb 300 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XI	6.2.b.4	≈7	≈6	1.731	0.107	-9.06E+06	-
XIV	3.b.2	≈8	≈6	2.742	0.130	2.93E+07	-
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈7	1.777	1.634	2.54E+09	+
XXVI	7.b.2	≈7	≈6	0.893	0.127	2.54E+07	-
XXVIII	5.1.b.4	≈7	≈6	1.274	0.130	3.04E+07	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈8	≈6	3.064	0.127	2.54E+07	-
XXXIII	4.2.b.4	≈8	≈7	2.204	1.774	2.77E+09	+
	H	≈8	≈7	2.404	1.893	2.97E+09	+
	M	≈8	≈7	2.503	1.575	2.44E+09	+
	S3	≈8	≈7	2.183	1.363	2.08E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 37. Tolerancia de Pb en caldo LB con 600 mg L⁻¹ de Pb como Pb(C₂H₃O₂)₂·3H₂O Ph_{inicial} =6

Pb 600 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8.5	≈7.5	3.005	2.975	4.77E+09	+
XXXIII	4.2.b.4	≈8.5	≈8.5	2.814	2.200	3.48E+09	+
	H	≈8	≈6	2.842	0.096	-2.74E+07	-
	M	≈7	≈8	0.864	1.497	2.31E+09	+
	S3	≈7	≈6	1.576	0.098	-2.41E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 38. Tolerancia a Pb en caldo LB 1.5 con 900 mg L⁻¹ de Pb como Pb(C₂H₃O₂)₂·3H₂O Ph_{inicial} =5.5

Pb 900 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈9	3.002	3.056	4.91E+09	-
XXXIII	4.2.b.4	≈8	≈9	2.898	2.532	4.03E+09	-
	M	≈7	≈5.5	1.347	0.140	4.56E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 39. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 20 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO)·½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 20 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈7	≈6	1.496	0.166	8.98E+07	-
II	1.3.b.6	≈7	≈6	0.6	0.149	6.15E+07	-
III	5.1.b.1	≈7	≈6	1.534	0.185	1.22E+08	-
IV	p.8 bac 2	≈8	≈7	1.97	1.736	2.71E+09	+
V	2.2.b.4	≈7.5	≈6	1.098	0.343	3.85E+08	+
VII	9.1.b.1	≈7	≈7	0.899	0.786	1.12E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈7.5	≈6	1.305	0.122	1.65E+07	-
XI	6.2.b.4	≈7	≈6	0.79	0.107	-9.06E+06	-
XIII	6.b.3	≈7	≈6.5	1.534	0.756	1.07E+09	+
XIV	3.b.2	≈7	≈6	0.687	0.110	-2.94E+06	-
XV	4.2.b.3	≈8	≈6.5	0.777	0.375	4.38E+08	+
XVI	4.2.b.1	≈7	≈6	1.351	0.340	3.80E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈6.5	1.399	0.786	1.12E+09	+
XX	6.1.b.1	≈8	≈7	1.025	0.453	5.68E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈6.5	≈6.5	0.604	0.471	5.99E+08	+

XXIII	1.3.b.4	≈7.5	≈6	1.433	0.193	1.34E+08	-
XXVI	7.b.2	≈7	≈7	0.864	0.875	1.27E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈7	≈6	0.916	0.117	8.17E+06	-
XXIX	p.8.1 bac 2	≈6	≈6	0.918	0.444	5.53E+08	+
XXX	6.b.4	≈7	≈6	1.384	0.183	1.18E+08	-
XXXI	8.1.b.4	≈7.5	≈6	1.433	0.195	1.39E+08	-
XXXIII	4.2.b.4	≈7	≈7	1.042	1.061	1.58E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 40. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 50 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 50 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈8	≈6	1.09	0.530	6.69E+08	+
V	2.2.b.4	≈8	≈6	1.241	0.358	4.10E+08	+
VII	9.1.b.1	≈7	≈6	1.314	0.353	4.02E+08	+
XIII	6.b.3	≈7	≈6	0.807	0.338	3.77E+08	+
XV	4.2.b.3	≈6	≈6	0.715	0.125	2.15E+07	-
XVI	4.2.b.1	≈7	≈6	0.991	0.262	2.50E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈7	≈6.5	1.075	0.403	4.85E+08	+
XX	6.1.b.1	≈8	≈6	1.02	0.131	3.09E+07	-
XXI	5.1.b.5	≈8	≈6	0.84	0.387	4.58E+08	+
XXVI	7.b.2	≈7	≈6	0.492	0.121	1.43E+07	-
XXIX	p.81bac2	≈7	≈6	0.970	0.111	-2.39E+06	-
XXXIII	4.2.b.4	≈8	≈6	1.262	0.127	2.48E+07	-
	A	≈7	≈6	1.333	0.413	5.02E+08	+
	E	≈6.5	≈6	0.834	0.410	4.97E+08	+
	H	≈7	≈6	1.052	0.297	3.09E+08	+
	M	≈6.5	≈6	0.884	0.158	7.59E+07	-
	N	≈7	≈6	1.011	0.378	4.43E+08	+
	S1	≈7	≈6	1.305	0.554	7.37E+08	+
	S3	≈6.5	≈6.5	0.874	0.829	1.20E+09	+
	U1	≈6	≈6	0.763	0.501	6.48E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 41. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 100 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 100 mg L ⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈8	≈6	1.052	0.604	8.20E+08	+
V	2.2.b.4	≈6	≈6	0.857	0.126	2.37E+07	-
VII	9.1.b.1	≈7	≈6	1.013	0.292	3.00E+08	+
XIII	6.b.3	≈7	≈6	0.775	0.876	-1.02E+07	+
XVI	4.2.b.1	≈6	≈6	0.866	0.106	1.27E+09	+

XVIII	p.3.1.bac 1	≈8	≈6	1.111	0.352	4.00E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈7	≈6	0.864	0.124	1.98E+07	-
	A	≈7	≈6	1.003	0.109	-5.17E+06	-
	E	≈7	≈6	1.301	1.134	1.70E+09	+
	H	≈7	≈6	1.052	0.297	1.06E+08	+
	N	≈6.5	≈6	0.839	0.442	5.50E+08	+
	S1	≈6	≈6	0.553	0.544	7.20E+08	+
	S3	≈7.5	≈6	1.355	0.123	1.87E+07	-
	U1	≈6	≈6	0.529	0.177	1.08E+08	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 42. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 150 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 150 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈8	≈7	1.484	1.188	1.79E+09	+
VII	9.1.b.1	≈8	≈6	1.332	0.133	3.48E+07	-
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.482	0.361	4.15E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈6	≈6	0.884	0.299	3.12E+08	+
	E	≈7	≈6	1.115	0.361	4.15E+08	+
	H	≈7	≈6	0.891	0.471	4.32E+08	+
	N	≈7	≈6	1.112	0.100	-2.07E+07	-
	S1	≈6	≈6	0.457	0.407	4.92E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 43. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 200 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 200 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac2	≈7	≈6	1.319	1.113	1.67E+09	+
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.365	0.227	1.91E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈6	≈6	0.958	0.290	2.97E+08	+
	H	≈7.5	≈6	1.346	0.145	7.09E+07	-
	E	≈6	≈6	0.720	0.553	7.34E+08	+
	S1	≈6	≈6	0.738	0.270	2.35E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 44. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 300 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 300 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
IV	p.8 bac2	≈6	≈6	1.388	0.107	-9.06E+06	-
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.365	0.425	5.21E+08	+
XVIII	p.3.1bac1	≈7	≈6	0.942	0.107	-8.50E+06	-
	E	≈6	≈6	0.588	0.446	5.57E+08	+
	S1	≈6	≈6	0.457	0.099	-2.18E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 45. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 600 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 600 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.535	0.719	1.01E+09	+
	E	≈7	≈6	1.056	0.096	-2.68E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 46. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 1000 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 1000 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.429	0.618	8.43E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 47. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 2000 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 2000 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
XIII	6.b.3	≈6	≈6	0.838	0.771	1.10E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 48. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 4000 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 4000 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
XIII	6.b.3	≈6	≈5	0.492	0.596	8.07E+08	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 49. Tolerancia a Sb en caldo R2A con 5000 mg L⁻¹ de Sb como C₄H₄O₆K (SbO).½H₂O Ph_{inicial} =6

Sb 5000 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
XIII	6.b.3	≈7	≈6	0.858	0.102	-1.63E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 50. Tolerancia a Zn en caldo R2A con 50 mgL⁻¹ de Zn como (ZnSO₄) pH_{inicial} =6

Zn 50 mg L⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
I	P.3.1 bac 2	≈ 8.5	≈ 6.5	0.968	1.279	1.95E+09	+
II	1.3.b.6	≈ 7	≈ 7	0.6	0.621	8.48E+08	+
III	5.1.b.1	≈ 8	≈ 7	0.946	1.503	2.32E+09	+
IV	p.8 bac 2	≈ 7.5	≈ 7.5	0.667	0.756	1.07E+09	+

V	2.2.b.4	≈ 7.5	≈ 6.5	0.78	0.755	1.07E+09	+
VII	9.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7.5	0.729	0.836	1.21E+09	+
VIII	5.2.b.2	≈ 8	≈ 6	1.174	1.134	1.70E+09	+
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 7	1.04	0.770	1.10E+09	+
XIII	6.b.3	≈ 7	≈ 7	1.432	0.699	9.79E+08	+
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6.5	0.687	0.265	2.54E+08	+
XV	4.2.b.3	≈ 7.5	≈ 7	0.785	0.830	1.20E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈ 8	≈ 7.5	1.216	0.620	8.47E+08	+
XVIII	p.3.1.bac 1	≈ 8.5	≈ 6	1.514	0.268	2.60E+08	-
XX	6.1.b.1	≈ 7.5	≈ 7	0.773	0.680	9.47E+08	+
XXI	5.1.b.5	≈ 7.5	≈ 7	0.964	0.833	1.20E+09	+
XXIII	1.3.b.4	≈ 8	≈ 7	1.236	0.565	7.55E+08	+
XXVI	7.b.2	≈ 8.5	≈ 7.5	1.541	1.112	1.67E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 8	≈ 7	1.243	1.390	2.13E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7.5	≈ 7	1.357	0.749	1.06E+09	+
XXX	6.b.4	≈ 8	≈ 7	1.357	1.095	1.64E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 8.5	≈ 7.5	0.862	0.879	1.28E+09	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 8	≈ 7.5	1.217	1.197	1.85E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 51. Tolerancia a Zn en caldo R2A con 70 mgL⁻¹ de Zn como (ZnSO₄) pH_{inicial} =6

Zn 70 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
I	P.3.1 bac 2	≈ 7	≈ 6	1.496	0.179	1.11E+08	-
II	1.3.b.6	≈ 8	≈ 6	0.804	0.107	-7.94E+06	-
III	5.1.b.1	≈ 7	≈ 6	1.424	0.298	3.10E+08	-
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 7	1.086	0.583	7.84E+08	+
V	2.2.b.4	≈ 8	≈ 7	0.812	0.710	9.97E+08	+
VII	9.1.b.1	≈ 7	≈ 7	0.899	0.655	9.05E+08	+
VIII	5.2.b.2	≈ 7.5	≈ 6	1.305	0.107	-7.94E+06	-
XI	6.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.22	0.134	3.65E+07	-
XIII	6.b.3	≈ 8	≈ 6	0.807	0.113	2.06E+06	-
XIV	3.b.2	≈ 7	≈ 6	0.702	0.112	3.89E+05	-
XV	4.2.b.3	≈ 7.5	≈ 7	0.777	0.713	1.00E+09	+
XVI	4.2.b.1	≈ 8	≈ 6.5	1.348	0.211	1.65E+08	-
XX	6.1.b.1	≈ 8	≈ 6	1.139	0.294	3.03E+08	-
XXI	5.1.b.5	≈ 8	≈ 6	1.308	0.260	2.47E+08	-
XXIII	1.3.b.4	≈ 7.5	≈ 7	1.433	1.280	1.95E+09	+
XXVI	7.b.2	≈ 8	≈ 6.5	1.687	0.636	8.73E+08	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 8	≈ 6.5	1.297	0.717	1.01E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 7.5	≈ 7	1.037	0.924	1.35E+09	+
XXX	6.b.4	≈ 7	≈ 7	1.384	1.639	2.154E+09	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 7.5	≈ 6.5	0.758	0.563	7.51E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 7.5	1.042	1.511	2.33E+09	+

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 52. Tolerancia a Zn en caldo R2A con 140 mgL⁻¹ de Zn como (ZnSO₄) pH_{inicial}=6

Zn 140 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
IV	p.8 bac 2	≈ 7	≈ 6	1.317	0.232	2.00E+08	-
V	2.2.b.4	≈ 7	≈ 6	1.121	0.201	1.48E+08	-
VII	9.1.b.1	≈ 8	≈ 6	1.314	0.121	1.48E+07	-
XV	4.2.b.3	≈ 6.5	≈ 6	0.536	0.104	-1.41E+07	-
XXIII	1.3.b.4	≈ 6.5	≈ 6	0.638	0.123	1.82E+07	-
XXVI	7.b.2	≈ 7	≈ 7	0.874	0.856	1.24E+09	+
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 6.5	0.916	0.717	1.01E+09	+
XXIX	p.8.1 bac 2	≈ 8	≈ 6	1.291	0.172	9.93E+07	-
XXX	6.b.4	≈ 6.5	≈ 6.5	0.656	0.265	2.54E+08	+
XXXI	8.1.b.4	≈ 7	≈ 6.5	0.78	0.238	2.10E+08	+
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 7	1.562	1.186	1.79E+09	+
	A	≈ 7	≈ 6	1.333	0.105	-1.18E+07	-
	E	≈ 6	≈ 6	0.834	0.389	4.61E+08	+
	H	≈ 6	≈ 6	0.512	0.105	-1.13E+07	-
	M	≈ 6.5	≈ 6	0.884	0.107	-7.94E+06	-
	N	≈ 6.5	≈ 6	1.102	0.116	5.94E+06	-
	S1	≈ 7	≈ 6	1.305	0.109	-5.72E+06	-
	S3	≈ 6.5	≈ 6	0.874	0.156	7.26E+07	-
	U1	≈ 60	≈ 6	0.763	0.109	-4.61E+06	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 53. Tolerancia a Zn en caldo nutritivo 1:10 con 280 mgL⁻¹ de Zn como (ZnSO₄) pH_{inicial}=5.5

Zn 280 mg L⁻¹							
Grupo	Aislado	pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ =600 nm)		UFC mL ⁻¹	Resultado _C
		Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B		
XXVI	7.b.2	≈ 6	≈ 5.5	0.492	0.122	1.71E+07	-
XXVIII	5.1.b.4	≈ 7	≈ 5.5	0.897	0.129	2.87E+07	-
XXX	6.b.4	≈ 7	≈ 5.5	0.624	0.146	5.71E+07	-
XXXI	8.1.b.4	≈ 6	≈ 5.5	0.931	0.137	4.15E+07	-
XXXIII	4.2.b.4	≈ 7	≈ 5.5	0.871	0.114	3.17E+06	-
	E	≈ 7	≈ 6	1.028	0.530	6.96E+08	+
	N	≈ 7	≈ 6	0.839	0.146	5.71E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

Cuadro 54. Tolerancia a Zn en caldo nutritivo 1:10 con 550 mgL⁻¹ de Zn como (ZnSO₄) pH_{inicial} = 5.2

Zn 280 mg L ⁻¹							
		pH después de 48 h de incubación		Valor de absorbancia (λ = 600 nm)			
Grupo	Aislado	Control _A	Cultivo con metal	Control _A	Promediada _B	UFC mL ⁻¹	Resultado _C
	E	≈ 7	≈ 6	1.279	0.128	2.71E+07	-

A= medio inoculado con el respectivo aislado bacteriano sin la presencia de metal.

B= triplicado de los tratamientos con el inoculo microbiano y metal.

C= capacidad del aislado bacteriano de crecer en presencia del medio con metal.

En el cuadro 55 se observan las CMI para cada aislado bacteriano cultivado en caldo con los metales ensayados en esta investigación (Al, Cd, Cr, Cu, Pb, Sb y Zn). Los aislados con las CMI más altas para Al (>300 mg L⁻¹) pertenecientes a la rizósfera son 5.1.b.1, p.8.bac2, 9.1.b.1, 5.2.b.2, 3.b.2, p.3.1bac1 y 7.b.2. De los aislados de suelo no rizosférico se tiene a E (de la especie *Pantoea agglomerans*), H y M (ambas de la especie *Streptomyces* sp.) (López, 2015). Bacterias muy tolerantes a Al (de hasta 20 M) suelen aislarse de suelos de naturaleza ácida ya que este elemento es muy biodisponible cuando el pH del suelo es bajo (Campos, 1995).

Los aislados con las CMI más altas (20 mg L⁻¹) para Cd son aquellos que fueron aislados del suelo no rizosférico (sin vegetación), en especial el aislado E (*Pantoea agglomerans*) (López, 2015). En el cuadro 3, se hace referencia a que la especie tiene antecedentes de tolerancia a este metal. Ya que el Cd está presente y biodisponible en suelos agrícolas con extrema adición de fertilizantes fosfatados, aislados bacterianos expuestos a estas condiciones suelen ser muy resistentes (2200 mg L⁻¹) (Lin *et al.*, 2016).

El aislado E (*Pantoea agglomerans*) (reportado previamente en la tesis de Licenciatura de López en el 2015) de suelo no rizosférico mostró crecimiento a una concentración de Cr de hasta 400 mg L⁻¹, con una CMI de 600 mg L⁻¹. Suelos, ríos y depósitos subterráneos cerca de zonas industrializadas comúnmente presentan alto contenido de Cr

(Liu *et al.*, 2016), aislados bacterianos que toleren concentraciones de hasta 500 mg L⁻¹ de Cr (VI) suelen utilizarse como elementos de biorremediación en sitios contaminados. Se ha demostrado que aislados bacterianos del género *Pantoea* de estos sitios reducen Cr (VI) a Cr (III) (Ontañón *et al.*, 2014), mientras que hay también publicaciones científicas que prueban la inhibición de crecimiento de este género en presencia del Cr (VI) a bajas concentraciones (Mohammad y Shamim, 2012). La enzima cromato reductasa (*Chr*, por sus siglas en inglés) es una enzima encontrada en bacterias resistentes al Cr, que además cataliza la reducción de Cr (VI) a Cr (III) (Sanjay *et al.*, 2018). No se encontró información científica que asegure que esta especie contiene el gen mencionado, pero se sabe que este género biotransforma el Cr (VI) de sitios contaminados (Ahemad, 2014).

El aislado E proveniente de suelo no rizosférico fue el único que creció en contacto con 75 mg L⁻¹ de Cu. Existe evidencia científica de que aislados bacterianos extremófilos halotolerantes del desierto toleran hasta 270 mg L⁻¹ de Cu (Moreno *et al.*, 2012). Bacterias aisladas de aguas residuales con desechos de curtidurías son capaces de tolerar hasta 400 mg L⁻¹ de Cu (Shakoori y Muneer, 2002), y se ha encontrado que bacterias altamente tolerantes a Cu (2-6 g L⁻¹) son aisladas de soluciones de lixiviación ácida (Orell *et al.*, 2010).

Los aislados p.3.1.bac1 y 4.2.b.4 de suelo rizosférico tienen una CMI mayor a 600 mg L⁻¹ para Pb, teniendo también la capacidad de alcalinizar el medio (pH=9) y precipitar completamente el metal a una concentración de 900 mg L⁻¹. El aislado de suelo no rizosférico M del género *Streptomyces sp* (López, 2015) tolera hasta 600 mg L⁻¹. Bacterias aisladas de efluentes industriales toleran concentraciones de Pb de 50 mg L⁻¹ (Mustapha y Halimoon, 2015).

El aislado 6.b.3 de suelo rizosférico toleró una concentración de hasta 4000 mg L⁻¹ de Sb. Aguas contaminadas (condiciones de laboratorio) con Sb (III) fueron tratadas con

bacterias que toleran 50 mg L^{-1} de este metal, oxidándolo químicamente a Sb (V) (Zhang *et al.*, 2016). Bacterias aisladas de minas de Sb, oxidan arriba de 3000 mg L^{-1} de Sb (III) a Sb (V) en 48 h (Li *et al.*, 2013).

El aislado de suelo no rizosférico E (*Pantoea agglomerans*) (López, 2015) mostró la mayor CMI para Zn (50 mg L^{-1}), siendo 280 mg L^{-1} su límite tolerable. La biolixiviación de Zn con bacterias acidófilas es considerada una opción de tratamiento de sitios contaminados con este metal (Selvi y Aruliah, 2018).

Cuadro 55. Concentración mínima inhibitoria (CMI mg L⁻¹) de diferentes metales para los 30 aislados bacterianos.

<i>Aislados Bacterianos</i>	<i>CMI mg L⁻¹</i>						
	<i>Al</i>	<i>Cd</i>	<i>Cr</i>	<i>Cu</i>	<i>Pb</i>	<i>Sb</i>	<i>Zn</i>
<i>P.3.1 bac 2</i>	150	2.5	35	35	15	20	70
<i>1.3.b.6</i>	100	2.5	50	35	60	20	70
<i>5.1.b.1</i>	>300	2.5	100	25	15	20	70
<i>p.8 bac 2</i>	>300	2.5	200	75	15	300	140
<i>2.2.b.4</i>	300	05	75	50	15	100	140
<i>9.1.b.1</i>	>300	05	400	25	30	150	140
<i>5.2.b.2</i>	>300	2.5	400	35	15	20	70
<i>6.2.b.4</i>	100	2.5	35	35	300	20	70
<i>6.b.3</i>	100	2.5	50	50	30	5000	70
<i>3.b.2</i>	>300	2.5	50	35	300	20	70
<i>4.2.b.3</i>	100	2.5	50	35	100	50	140
<i>4.2.b.1</i>	100	05	100	35	15	100	70
<i>p.3.1.bac 1</i>	>300	2.5	75	25	900	300	50
<i>6.1.b.1</i>	100	2.5	100	75	30	50	70
<i>5.1.b.5</i>	100	2.5	35	50	60	100	70
<i>1.3.b.4</i>	50	2.5	50	25	30	20	140
<i>7.b.2</i>	>300	2.5	75	50	300	50	280
<i>5.1.b.4</i>	100	2.5	50	25	300	20	280
<i>p.8.1 bac 2</i>	100	2.5	100	25	300	50	140
<i>6.b.4</i>	100	2.5	100	25	60	20	280
<i>8.1.b.4</i>	100	2.5	75	50	30	20	280
<i>4.2.b.4</i>	150	2.5	75	35	900	50	280
<i>A</i>	50	5	100	35	30	100	140
<i>E</i>	>300	20	600	100	100	600	550
<i>H</i>	>300	5	200	50	600	200	140
<i>M</i>	>300	10	75	35	900	50	140
<i>N</i>	100	5	100	50	150	150	140
<i>SI</i>	100	2.5	75	35	100	300	140
<i>S3</i>	100	10	75	35	600	100	140
<i>U1</i>	100	10	75	35	150	100	140

7. CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra la capacidad de microorganismos nativos del suelo de la Laguna Salada Baja California para tolerar periodos de hasta 24 horas de exposición a radiación UVC, fijar N₂ y solubilizar fosfato. Dichos microorganismos podrían otorgar resistencia a plantas, promoviendo una simbiosis positiva con especies vegetales nativas o de interés agrícola de la región.

Los aislados rizosféricos que fijan N₂ y también solubilizan fosfato son 5.1.b.1, p.8.bac2, 2.2.b.4, 4.2.b.1, 5.1.b.4, 6.b.4 y 4.2.b.4. Aquellos aislados provenientes de suelo no rizosférico que demostraron ambas habilidades son los aislados E y M *Pantoea agglomerans* y *Streptomyces sp* respectivamente, previamente reportados en la tesis de licenciatura de López en el 2015, ambos potenciales promotores de crecimiento vegetal según reportes de literatura y resultados obtenidos en esta investigación.

La prueba de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos arrojó valores heterogéneos para los aislados en presencia de los diferentes metales, donde destaca principalmente el aislado de suelo no rizosférico E, que para la mayoría de los metales mostró la mayor CMI y el aislado de suelo rizosférico 6.b.3 que creció en presencia de 4 g L⁻¹ de Sb (III).

La fijación de N₂ y solubilización de fosfato cálcico, son características de alto interés agrícola y ambiental. Aislados bacterianos rizosféricos y aislados de suelo no rizosférico (sin vegetación) demostraron potencial para que futuras investigaciones evalúen su capacidad como biofertilizantes.

Se han utilizado aislados bacterianos para remediar biológicamente sitios contaminados con elementos potencialmente tóxicos en concentraciones similares a las expuestas en el presente trabajo de investigación (Emenike *et al.*, 2017). En los sitios de

estudio no existe solamente un contaminante, por ello, en investigaciones futuras se podría evaluar la tolerancia de los aislados bacterianos solos o en conjunto en presencia de varios elementos a la vez para determinar potencial uso como elementos de biorremediación.

8. REFERENCIAS

1. (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 1996). Normas oficiales mexicanas. Recuperado de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881304&fecha=03/06/1998
2. (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 1996). Normas oficiales mexicanas. Recuperado de <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAA-15-13.pdf>
3. (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2005). Normas oficiales mexicanas. Recuperado de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4912592&fecha=23/06/2006
4. (Secretaría de Salud, 1994). Normas oficiales mexicanas. Recuperado de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html>
5. (Secretaría de Salud, 2015). Normas oficiales mexicanas. Recuperado de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015
6. (Secretaría del Trabajo y Previsión Social, 1999) Normas oficiales mexicanas. Recuperado de <http://asinom.stps.gob.mx:8145/upload/nom/10.pdf>
7. Acioly L., Villar J., Barbosa A., Gomes F., Andrade R., De Campos G. (2017). An Investigation on the Heavy Metal Tolerance and Antibiotic Profile of the *Pantoea agglomerans* UCP1320. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6(11): 4145-4151.
8. Ackland M. L., Michalczyk, A. (2016). Zinc and infant nutrition. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 61151-61157.
9. Acosta M., Figueira L., Gonzales J. (2009). Cadmio, Efectos en la Salud y el Ambiente Informe Médico (11) 11:597-605.
10. Ahemad M. (2014). Bacterial mechanisms for Cr (VI) resistance and reduction: an overview and recent advances. *Folia Microbiol.* 59:321-332
11. Alcocer V., Castellanos A., Herrera F., Chel L., Betancur A. (2007). Detección de metales pesados y dicloro difenil tricloro etano (DDT) en músculos y órganos de bovinos en Yucatán. *Tec Pecu Mex.* (2) 45: 237-247.
12. Amallesh Samanta., Bera P., Khatun M., Sinha C., Pal P., Lalee A., Mandal A. (2012) An investigation on heavy metal tolerance and antibiotic resistance properties of bacterial strain *Bacillus* sp. isolated from municipal waste *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 2(1): 178-189.
13. Andeini C., Banci L., Bertini I., Rosato. (2006). Zinc through the Three Domains of Life. *Journal of Proteome Research.* 5 (11): 3173-3178
14. Aragon P. R., y De Leon D. (2012). Trace Elements: Environmental Sources, Geochemistry, and Human Health. Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.
15. Arango G. C., Prol L., Torres V. (2015). Geothermal prospects in the Baja California Peninsula. *Geother.* 55: 39-57.
16. Auld D. (1979). The role of Zinc in Biochemical Processes. *Advances in Chemistry.* 172:112-133
17. Awais M., Tariq M., Ali A., Ali Q., Khan A., Tabassum B., Nasir I., Husnain T. (2017). Isolation, characterization and Inter-relationship of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Sugarcane and Rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 11:312-321.

18. Bautista Z. (1999). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. 2-67
19. Belnap J. (2003). El Mundo a Tus Pies: Corteza del Suelo Biológico del Desierto. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 1: 181-189.
20. Benhamdi A., Bentellis A., Rached O., Du Laing G., Mechakra A. (2014). Effects of Antimony and Arsenic on Antioxidant Enzyme Activities of Two Steppic Plant Species in an Old Antimony Mining Area. *Biol Trace Elem Res* 158: 96-104
21. Bocher P., Caurant F., Miramand P., Cherel Y., Bustamante P. (2003). Influence of the diet on the bioaccumulation of heavy metals in zooplankton-eating petrels at Kerguelen archipelago, Southern Indian Ocean, *Polar Biol* 26: 759-767.
22. Boggs, J. E., Lucero, D. (2009). *Soil Fertility*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
23. Branco W., Lin H., Meloni M., Wansleben K., Heijungs R., van der Voet E. (2018). Estimating Global Copper Demand until 2100 with Regression and Stock Dynamics. *Resources, Conservation & Recycling*. 132:28-36.
24. Brunetti G., Farrag K., Soler P., Ferrara M., Nigro F., Senesi N. (2012). The effect of compost and *Bacillus licheniformis* on the phytoextraction of Cr, Cu, Pb and Zn by three brassicaceae species from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy, *Geoderma* 170:322-330.
25. Campos S. R. (1995) Selección In Vitro De Rhizobium Tolerante a Acidez Y Aluminio. *Agronomía Colombiana*. 12: 142-148.
26. Cañizarez R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42: 131-143.
27. Cariou E, Guivel C., La C., Lenta L., Elliot M. (2017). Lead accumulation in oyster shells, a potential tool for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. 125:19-29.
28. Carré E., Pérot J., Jauzein V., Ferber M. (2018). Impact of suspended particles on UV disinfection of activated-sludge effluent with the aim of reclamation. *Journal of Water Process Engineering*. 22:87-93
29. Celaya M. H., Villegas C. A. (2011). Mineralización de Nitrógeno en el Suelo de Zonas Áridas y Semiáridas. *Tierra Latinoamericana*. (3) 29:349-356.
30. Celik M., Ekerbicer H., Ergun U., Kiline M. (2007). Effects of Environmental Lead Pollution, Smoking, and Smokeless Tobacco (Maras Powder) Use on Blood Lead Level. *Biol Trace Elem Res* 120:121-126
31. Chanal A., Chapon V., Benzerara M., Barakat M., Christen R., Achouak W., Barras F., Heulin T. (2006). The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts a wide diversity of microorganisms and radiotolerant bacteria. (3)8: 514–525.
32. Charemtanyarak L. (1999) Heavy Metals Removal By Chemical Coagulation And Precipitation, Elsevier Science Ltd, 10-11, (39):135-138.
33. Che R., Deng Y., Wang F., Xu Z., Hao Y., Xue K., Zhang B., Tang L., Zhou H., Cui X. (2018). Autotrophic and symbiotic diazotrophs dominate nitrogen-fixing communities in Tibetan grassland soils. *Science of the Environment*. 639: 997-1006.

34. Cockell C., McKay P., Warren R., Horneck G. (2008). Ultraviolet radiation-induced limitation to epilithic microbial growth in arid deserts - Dosimetric experiments in the hyperarid core of the Atacama Desert. *J. Photochem. Photobiol* 90: 79-87.
35. Craig C., McDonald I., Barrett J., Cowan D. (2010). On the rocks: the microbiology of Antarctic Dry Valley Soils. *Nat Rev Microbiol* 8: 129–138.
36. Croes, S., Weyens, N., Janssen, J., Vercampt, H., Colpaert, J.V., Carleer, R., Vangronsveld, J. (2013). Bacterial communities associated with *Brassica napus* L. grown on trace element-contaminated and non-contaminated fields: a genotypic and phenotypic comparison. *Microb Biotechnol*, 6: 371-384.
37. Daehn K., Cabrera A., Allwood J. (2017). How Will Copper Contamination Constrain Future Global Steel Recycling? *Environ. Sci. Technol* 51: 6599-6606
38. Dahal B., NandaKafle G., Perkins L., Brözel V. Diversity of free-Living nitrogen fixing *Streptomyces* in soils of the badlands of South Dakota. *Microbiological Research*. 195:31-39.
39. Driscoll C. T., Schecher W. D., (1990). The chemistry of aluminum in the environment, *Environ. Geochem. Health* 12: 28–49
40. Emenike C.U., Agamuthu P., Fauziah S. (2017). Sustainable remediation of heavy metal polluted soil: A biotechnical interaction with selected bacteria species. *Journal of Geochemical Exploration*. 182:275-278.
41. Exley C. (2006). The toxicity of aluminium in humans, *Morphologie* (100) 329: 51-55.
42. Fan K., Weisenhorn P., Gilbert J., Shi Y., Bai Y., Chu H. (2018). Soil pH correlates with the co-occurrence and assemblage process of diazotrophic communities in rhizosphere and bulk soils of wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry*. 121: 185-192.
43. FAO. 2015. World Fertilizer Trends and Outlook to 2018. Rome. FAO. <http://www.fao.org/3/a-i4324e.pdf>
44. Feng J. M., Peter R., Delhaize E. (2011). Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids *Trends in Plant Science* 6:273-278
45. Gaby J., Buckley D. (2012). A Comprehensive Evaluation of PCR Primers to amplify the *nifH* Gene of Nitrogenase. *PLoS ONE* (7)7: 1-12.
46. Galán H. Emilio, Romero B. Antonio (2008) Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la sociedad española de mineralogía* 10: 48-60.
47. Garbanzo-León, Alemán-Montes, Alvarado-Hernández, Henriquez-Henriquez. (2017). Validación de modelos geoestadísticos y convencionales en la determinación de la variación espacial de la fertilidad de suelos del Pacífico Sur de Costa Rica. *Investigaciones Geográficas*. (93): 20-41
48. García A. J., Espinoza C., Munguía L., Wong V., Ramírez H. (2001). Crustal structure from 2-D gravity and magnetic data modeling, magnetic power spectrum inversion, and seismotectonics in the Laguna Salada basin, northern Baja California, Mexico. *Geofis.* (40) 2: 67–85.
49. Georgopoulos, P.G., Roy A., Opiekun R., Yonone-Lioy M., Lioy P. (2002) Environmental Copper: Its Dynamics and Human Exposure Issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, part. b. 4: 341-394
50. Godwin H. (2001). The biological chemistry of lead. *Bio-Inorganic Chemistry*. 5:223-227

51. Goering P., Liu J. (2018). Hepatotoxicity of copper, iron, cadmium and arsenic. *Biomedical Sciences Complete toxicology (Third edition) 2*: 575-596
52. Goosen N., Moolenaar G. (2008). Repair of UV damage in bacteria. *DNA Repair 7*: 353-379
53. Goyer R. A. (1997). Toxic and essential metal interactions *Annu. Rev. Nutr. 17*:37-50.
54. Gruijl R. F. (1999). Skin cancer and solar UV radiation. *European Journal of Cancer. (14)*35: 2003-2009.
55. Guo J., Kang Y., Feng Y. (2017). Bioassessment of heavy metal toxicity and enhancement of heavy metal removal by sulfate-reducing bacteria in the presence of zero valent iron. *Journal of Environmental Management. 203*:278-285
56. Hakguder B., Unluturk S. (2018). Effect of postharvest UV-C treatment on the microbial quality of 'Şalak' apricot. *Scientia Horticulturae. 233*: 370-377.
57. Hanjun G., Luo S., Chen L., Xiao X., Xi Q., Wei W., Zeng G., Liu C., Wan Y., Chen J., He Y. (2010) Bioremediation of heavy metals by growing hyperaccumulating endophytic bacterium *Bacillus sp. L14* *Bioresour. Technol. 101*:8599-8605.
58. Hassanian H., Shahnazi M., Zamani N., Rahimi M., Bahrami H., Amiri H. (2014). Plain abdominal radiography: A powerful tool to prognosticate outcome in patients with zinc phosphide poisoning. *Clinical Radiology. 69*: 1062-1065.
59. Hauptman M., Bruccoleri R., Woolf A. (2017). An Update on Childhood Lead Poisoning. *Clinical Pediatric Emergency Medicine. (3)* 18:181-192
60. Hedberg Y., Hedberg J., Herting G., Goidanich S., Odnevall I. (2014). Critical Review: Copper Runoff from Outdoor Copper Surfaces at Atmospheric Conditions. *Environ. Sci. Technol. 48*: 1372-1381
61. Henckens, Driessen, Worrell E. (2016). How can we adapt to geological scarcity of antimony? Investigation of antimony's substitutability and of other measures to achieve a sustainable use. *Resources, Conservation and Recycling. 108*: 54-62
62. Hildebrand M. P. (2011). Lead Toxicity in a Newborn. *Journal of Pediatric Health Care. (5)* 25:328-331.
63. Huang F., Wang Z., Cai Y., Chen S., Tian J., Zheng K. (2018). Heavy metal bioaccumulation and cation release by growing *Bacillus cereus* RC-1 under culture conditions, *Ecotoxicology and Environmental Safety 157*:216-226.
64. Huang J., Xi J., Hu H., Li Y., Lu S., Tang F., Pang Y. (2016). UV light tolerance and reactivation potential of tetracycline-resistant bacteria from secondary effluents of a wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Sciences. 41*: 146-153.
65. Iulia G., Matache M., Tudorache A., Chisamera G., Rozylowicz L., Radu G. (2012). Food chain biomagnification of heavy metals in samples from the lower prut floodplain natural park. *Environmental Engineering and Management Journal, (11)*1:69-73.
66. Johnson B., Goldblatt C. (2015). The nitrogen budget of Earth, *Earth-Science 148*: 150-173.
67. Johnson M., Kenney N., Stoica A., Hilakivi L., Singh B., Chepko G., Clarke R., Sholler P., A Lirio A., Foss C., Reiter R., Trock B., Paik S., Martin M. (2003). Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland *Nature Medicine 9*:1081-1084
68. Kabata P., Pendias H. (2000). *Trace Elements in Soil and Plants*, Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.

69. Kang C., So J. (2016). Heavy metal and antibiotic resistance of ureolytic bacteria and their immobilization of heavy metals. *Ecological Engineering*. 97: 304-312.
70. Kim R., Yoon J., Kim T., Yang J., Owens G., Kim K. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review 37:1041-1061.
71. King J. (2011). Zinc: an essential but elusive nutrient. *American Society for Nutrition*. 94: 679S-684S
72. Kochian L.V., Piñeros M., Liu J., Magalhaes J. (2015). Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance *Annu. Rev. Plant. Biol.* 66: 571-598.
73. Kondo T., Takahashi M., Watanabe S., Ebina M., Mizu D., Ariyoshi K., Asano M., Nagasaki Y., Ueno Y. (2016). An autopsy case of zinc chloride poisoning. *Legal Medicine*. 21: 11-14.
74. Krężel A., Wolfgang M. (2016). The biological inorganic chemistry of zinc ions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 611:3-19.
75. Kristensen L., Taylor M., Flegal A. (2017). An odyssey of environmental pollution: The rise, fall and remobilisation of industrial lead in Australia. *Applied Geochemistry*. (3) 83:3-13.
76. Lahuerta Zamora L., Pérez García M. T. (2012). Using digital photography to implement the McFarland method *J.R. Soc. Interface* 9:1892–1897
77. LaRoche J., Breitbart E. (2005). Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean. *Journal of sea Research*. 53:67-91.
78. Lech T. (2011). Fatal cases of acute suicidal sodium and accidental zinc fluorosilicate poisoning. Review of acute intoxications due to fluoride compounds. *Forensic Science International*. 206:e20-e28.
79. Li J., Wang Q., Zhang S., Qin D., Wang G. (2013). Phylogenetic and genome analyses of antimony-oxidizing bacteria isolated from antimony mined soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 76:76-80
80. Li J., Zheng B., He Y., Zhou Y., Chen X., Ruan S., Yang Y., Dai C., Tang L. (2018). Antimony contamination, consequences and removal techniques: A review. *Exotoxicology and Environmental Safety*. 156: 125-134.
81. Li X., Hou X., Mao Q., Zhao Y., Cheng Y. (2009). Toxic Effects of Copper on Antioxidative and Metabolic Enzymes of the Marine Gastropod, *Onchidium struma* *Arch Environ Contam Toxicol* 56:776-784
82. Lin X., Mou R., Cao Z., Xu P., Wu X. Zhu Z., Che M. (2016). Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains. *Science of the Environment*. 569: 97-104.
83. Liu G.S. (1996). *Soil Physical and Chemical Analysis and Description of Soil Profiles*, Standards Press of China, 65-67.
84. Liu H., Yang H., Yi F. (2016) Experimental study of the complex resistivity and dielectric constant of chrome-contaminated soil. *Journal of Applied Geophysics*. 131:109-116
85. López A.A.A. 2015. Bacterias extremófilas y su potencial en la producción de auxinas y metabolitos con actividad tensoactiva. Tesis de licenciatura en Bioingeniería. Universidad Autónoma de Baja California. Campus Mexicali. 07 de Agosto de 2015.

86. Marrero C., Diaz V., Coto P. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 41:67-78
87. Martínez Armando, Veranez M., Carballo O., Salgado M., Olivares I., Lima S., Rodríguez D. (2010) Resistencia a antibióticos y a metales pesados en bacterias aisladas del río Almendares *Revistas CENIC Ciencias Biológicas*. 41: 1-10.
88. Mason, A. C. (2012). *Bioremediation: Biotechnology, Engineering and Environmental Management*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
89. Menahem E., Ben H. (2018). Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 234: 431-444.
90. Mohammad Z., Ahmad S. (2012). Toxic chromate reduction by resistant and sensitive bacteria isolated from tannery effluent contaminated soil. *Ann Microbiol.* 62: 113-121.
91. Mohammadipanah F., Wink J. (2016). Actinobacteria from Arid and Desert Habitats: Diversity and Biological Activity. *Front. Microbiol.* 6:1541.
92. Morales D., Ocampo W., Zambrano M. (2007). Efficient removal of hexavalent chromium by a tolerant *Streptomyces* sp. affected by the toxic effect of metal exposure. *Journal of Applied Microbiology* 103, 6: 2704-2712.
93. Moreno M. L., Piubeli F., Bonfa M., Garcia M., Durrant L., Mellado E. (2012). Analysis and characterization of cultivable extremophilic hydrolytic bacterial community in heavy-metal-contaminated soils from the Atacama Desert and their biotechnological potentials. *Applied Microbiology*. 113:150-159.
94. Munira S., Farenhorst A., Akinremi W. (2018). Phosphate and glyphosate sorption in soils following long-term phosphate applications. *Geoderma*. 313:146-156.
95. Mustapha M., Halimoon N. (2015). Screening and isolation of heavy metal tolerant bacteria in industrial effluent. *Procedia Environmental Sciences*. 30:33-37
96. Nasse T., Metson G., Bennett E. (2018). Global phosphorus flows through agricultural trade. *Global Environmental Change*. 50: 133-141
97. Nautiyal C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.* 170: 265-270.
98. Obrador A., Gonzalez D., Alvarez J. (2013). Effect of Inorganic and Organic Copper Fertilizers on Copper Nutrition in *Spinacia oleracea* and on Labile Copper in Soil. *Agric. Food Chem.* 61: 4692-4701
99. Ontañón O. M. González P., Ambrosio L., Paisio C., Agostini E. (2014). Rhizoremediation of phenol and chromium by the synergistic combination of a native bacterial strain and *Brassica napus* hairy roots. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 88:192-198
100. Orell A., Navarro C., Arancibia R., Mobarec J., Jerez C. (2010). Life in blue: Copper resistance mechanisms of bacteria and Archaea used in industrial biomining of minerals. *Biotechnology Advances*. 28: 839-848.
101. Pande A., Pandey P., Mehra S., Singh M., Kaushik S. (2017). Phenotypic and Genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on the Growth of Maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15:379-391.

102. Pang J., Ryan M., Lambers H., Siddique K. (2018). Phosphorus acquisition and utilisation in crop legumes under global change. *Plant Biology*. 45:1-7.
103. Parvau, R. G. (2010). *Cadmium in the Environment*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
104. Pathania, D. (2016). *Heavy Metals: Sources, Toxicity and Remediation Techniques*. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc.
105. Pérez S.C., Martínez M., Martínez S., Hernández M. (2011). Antimony distribution in soils and plants near an abandoned mining site. *Microchemical Journal*. 97: 52-56.
106. Pishchik V.N., Provorov N., Vorobyov N., Chizevskaya E., Safronova V., Tuev A., Kozhemyakov A. (2009) Interactions between Plants and Associated Bacteria in Soils Contaminated with Heavy Metals *Microbiology* 78: 785-793.
107. Ramírez D., Serrano J., Sandoval H. (2006). Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37: 56-71.
108. Ramírez M., Riveros H., Campos J., Cervantes C. (2009). Reducción Bacteriana De Cromo Hexavalente: Mecanismos Y Aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*. 28: 73-79.
109. Ravi S., Touray S., Ahmad S. (2017). Mystical Fire Ingestion: An Illustrative Case of Accidental Copper Intoxication. *Chest Annual Meeting* (4) 154: A388
110. Reardon C., Gollany H., Wuest S. (2014). Diazotroph community structure and abundance in wheatefallow and wheatepea crop rotations. *Soil Biology & Biochemistry* 69: 406-412.
111. Rink L., & IOS P. (2011). *Zinc in Human Health*. Amsterdam: IOS Press.
112. Ruiz C. J., Díaz P. G., Guzmán R. S., Medina G. G., Silva S. M. (2006). *Estadísticas Climatológicas Básicas del Estado de Baja California (Periodo 1961-2003)*. Libro Técnico. Núm. 1. INIFAP-CIRNO. Cd. Obregón, Sonora, México. 165 p.
113. Ruiz M., Rochina A., Cervera M., de la Guardia M. (2017). Evaluation of the Content of Antimony, Arsenic, Bismuth, Selenium, Tellurium and Their Inorganic Forms in Commercially Baby Foods. *Biol Trace Elem Res* 180: 355-365.
114. Saldaña R. R. 2016. Bacterias asociadas a plantas de la Laguna la Salada, Baja California, y posibles aplicaciones en la industria. Tesis de licenciatura en Bioingeniería. Universidad Autónoma de Baja California. Campus Mexicali. 19 de Febrero de 2016.
115. Salden M. (2011). *Chromium: Environmental, Medical and Materials Studies*. Chemical Engineering Methods and Technology, New York, eBook.
116. Sanchez A. (2014). Copper in multivitamin supplements. *Arch soc esp oftalmol* 89(8): 340-343.
117. Sanjay M. S. Sudarsanam D., Raj G. A. Baskar K. (2018). Isolation and Identification of chromium reducing bacteria from tannery. *Journal of King Saud University – Science*.
118. Santos C., Monteiro M., Dias M. (2010). *Cadmium Toxicity in Crops: A Review*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
119. Schmitt M., Boras S., Tjoa A., Watanabe T., Jansen S. (2016). Aluminium Accumulation and Intra-Tree Distribution Patterns in *Three* Arbor aluminosa (*Symplocos*) Species from Central Sulawesi 11 (2): e0149078.

120. Selenska P., Sonja, Panak P., Miteva V., Boudakov I., Bernhard H. (1999) Selective accumulation of heavy metals by three indigenous *Bacillus* strains, *B. cereus*, *B. megaterium* and *B. sphaericus*, from drain waters of a uranium waste pile *FEMS Microbiology Ecology* 29:59-67.
121. Selvi A., Aruliah R. (2018). A statistical approach of zinc remediation using acidophilic bacterium via an integrated approach of bioleaching enhanced electrokinetic remediation (BEER) technology. *Chemosphere*. 207:753-763.
122. Shakoori A. R., Muneer B. (2002). Copper-Resistant Bacteria from Industrial Effluents and Their Role in Remediation of Heavy Metals in Wastewater. *Folia Microbiol.* 47(1) 43-50.
123. Shao H., Guang M., Qiu Y., Yang L. Lu Z., Lu H., Xiao T., Piao X., Chen Z., Min C. (2017). Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. *Bioresource Technology*. 224: 25-33.
124. Sharma P., Dubey R. (2005). Lead Toxicity in Plants. *Braz. J. Plant Physiol* 17 (1): 35-52
125. Shukla V., Shukla P., Tiwari A. (2010). Lead poisoning. *Indian Journal of Medical Specialities*. <https://doi.org/10.1016/j.injms.2018.04.003>
126. Singh S., Kumar D., Singh S., Sharma S., Kishore N., Kumar C., Vacuik M. (2017), Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review *Environmental and Experimental Botany* 137: 177-193
127. Soltangheisi A., Rodrigues M., Jordana M., Coelho A., Gasperini M., Sartor R., Pavinato P. (2018). Changes in soil phosphorus lability promoted by phosphate sources and cover crops. *Soil & Tillage Research*. 179:20-28
128. Soman C., Kent, A. D., Keymer, D. P. (2018). Edaphic correlates of feedstock-associated diazotroph communities. *GCB Bioenergy*, 10(5), 343-352.
129. Spelz R. M., Fletcher J., Lewis O., Caffee M. (2008). Quaternary alluvial-fan development, climate and morphologic dating of fault scarps in Laguna Salada, Baja California, Mexico. *Geomor.* (3-4) 102: 578-594.
130. Stüeken E., Kipp M., Koehler M., Buick R. (2016), The evolution of Earth's biogeochemical nitrogen cycle, *Earth-Science Reviews* (160):220-239.
131. Sturikova H., Krystofova O., Huska D., Adam V. (2018). Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of Hazardous Materials* 349:101-110
132. Tang Y., Zhang M., Chen A., Zhang W., Wei W., Sheng R. Impact of fertilization regimes on diazotroph community compositions and N₂-fixation activity in paddy soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 247:1-8
133. Tyler G., Balsberg M., Bengtsson G., Baath E., Tranvik L. (1989) Heavy-Metal Ecology Of Terrestrial Plants, Microorganisms And Invertebrates 47: 189-215
134. Velleux M., Redman A., Paquin P., Santore R., England J., Julien P. (2012) Exposure Assessment Framework for Antimicrobial Copper Use in Urbanized Areas. *Environ. Sci. Technol.* 46: 6723-6732
135. Vullo L. D. (2003). Microorganismos y metales pesados: una Interacción en beneficio del medio ambiente. *Química Viva* 3: 93-104

136. Wang, Z. (2010). *Mechanisms of Cadmium Toxicity to Various Trophic Saltwater Organisms*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
137. Wayne L., Shuerger C., Seflow P. (2005). The solar UV environment and bacterial spore UV resistance: considerations for Earth-to-Mars transport by natural processes and human spaceflight. *Mutation Research* 571: 249–264.
138. Wei C., Deng Q., Wu F., Fu Z., Xu L. (2011) Arsenic, Antimony, and Bismuth Uptake and Accumulation by Plants in an Old Antimony Mine, China. *Biol Trace Elem Res* 144:1150-1158.
139. Wei Y., Zhao Y., Shi M., Cao Z., Lu Q., Yang T., Fan Y., Wei Z. (2018). Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*. 247:190-199.
140. Wen X., Du C., Zeng G., Huang D., Zhang J., Yin L., Tan S., Huang L., Chen H., Yu G., Hu X., Lai C., Xu P., Wan J. (2018) A novel biosorbent prepared by immobilized *Bacillus licheniformis* for lead removal from wastewater, *Chemosphere* 200:173-179.
141. Xuan W., Beeckman T., Xu G. (2017) Plant nitrogen nutrition: sensing and signaling. *Plant Biology*, (39): 57-65.
142. Yang C., Skaug M., Andersen O., Aaseth J. (2015). Chelation therapy in poisonings with mercury, lead and copper. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 31: 188-192
143. Zhang G., Ouyang X., Li H., Fu Z., Chen J. (2016). Bioremoval of antimony from contaminated waters by a mixed batch culture of sulfate-reducing bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 115:148-155
144. Zhao T., Zhi W., Xin Y., Xiong Y., Zeng F., Qiao Y. (2016). Desintoxicación Altamente Eficiente De Cr (VI) Por El Lignito Y La Kerogeno: Estudios De Proceso Y De Estructura. *Tecnología de Procesamiento de Combustible*. 150:71-77
145. Zhou G., Yang H., Zhou H., Wang C., Fu F., Yu Y., Lu X., Tian Y. (2016) Complete genome sequence of the *Streptomyces* sp. strain CdTB01, a bacterium tolerant to cadmium *Journal of Biotechnology* 229:42-43.
146. Zhu J., Li M., Whelan M. (2018). Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of the Total Environment*. 612:522-537.
147. Zmijewska W. (1994). Determination of Antimony in Natural Waters by Preconcentration on a Chelating Sorbent Followed by Instrumental Neutron Activation Analysis. *Biological Trace Element Research*. (16) 3: 251-257.

ANEXOS

8.1. Medio semi sólido malato-sacarosa (pH=7.2)

Sacarosa	10 g L ⁻¹
C ₄ H ₆ O ₅	5 g L ⁻¹
MgSO ₄ •7H ₂ O	0.3563 g L ⁻¹
FeCl ₃	0.01 g L ⁻¹
NaCl	0.1 g L ⁻¹
CaCl ₂ •2H ₂ O	0.151 g L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	0.1 g L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	0.4 g L ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ •H ₂ O	0.0021 g L ⁻¹
Bacto agar	7.5 g L ⁻¹
Azul de bromotimol	3 ml L ⁻¹

8.2. Medio NBRIP (pH =7.0)

Glucosa	10 g L ⁻¹
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5 g L ⁻¹
MgCl ₂ •6H ₂ O	5 g L ⁻¹
MgSO ₄ •7H ₂ O	0.25 g L ⁻¹
KCl	0.2 g L ⁻¹
(NH ₄) ₂ •SO ₄	0.1 g L ⁻¹
Bacto agar	15 g L ⁻¹