



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

***Pseudomona Aeruginosa* para la reducción de Cadmio (Cd) y
Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH -
Tingo María, 2023**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera Ambiental

AUTORAS:

Canales Palomino, Anabel Johanna (orcid.org/0000-0001-8805-8263)

Salvador Simon, Estela (orcid.org/0000-0001-5391-4525)

ASESOR:

Dr. Ordoñez Galvez, Juan Julio (orcid.org/0000-0002-3419-7361)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

LIMA – PERÚ

2023

DEDICATORIA

A nuestros padres, por su apoyo incondicional, por su ayuda y sacrificio en el transcurso de nuestra carrera profesional; por inculcarnos sus enseñanzas, principios y valores, por ser nuestro sostén en los momentos más difíciles. Este nuevo logro de nuestra vida, se lo debemos a ustedes y es para ustedes.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darnos la perseverancia y fortaleza de afrontar cualquier dificultad que se nos presentó en el camino, también a nuestros padres, por brindarnos el apoyo incondicional y las fuerzas para seguir adelante; a nuestro asesor Dr. Ordoñez Gálvez, Juan Julio por la confianza, paciencia y el apoyo en el tiempo de la investigación y a la Química Farmacéutica Bióloga Rosalbina de la Cruz por los consejos y el apoyo en el proceso de la investigación.



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, ORDOÑEZ GALVEZ JUAN JULIO, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, asesor de Tesis titulada: "Pseudomona Aeruginosa para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH – Tingo María, 2023", cuyos autores son SALVADOR SIMON ESTELA, CANALES PALOMINO ANABEL JOHANNA, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 17.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

LIMA, 26 de Noviembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
ORDOÑEZ GALVEZ JUAN JULIO DNI: 08447308 ORCID: 0000-0002-3419-7361	Firmado electrónicamente por: JORDONEZ02 el 13- 12-2023 18:43:38

Código documento Trilce: TRI - 0665819



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Originalidad de los Autores

Nosotros, CANALES PALOMINO ANABEL JOHANNA, SALVADOR SIMON ESTELA estudiantes de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, declaramos bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "Pseudomona Aeruginosa para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH – Tingo María, 2023

", es de nuestra autoría, por lo tanto, declaramos que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. Hemos mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Nombres y Apellidos	Firma
SALVADOR SIMON ESTELA DNI: 76633906 ORCID: 0000-0001-5391-4525	Firmado electrónicamente por: ESALVADOR el 18-12- 2023 15:50:36
CANALES PALOMINO ANABEL JOHANNA DNI: 70544069 ORCID: 0000-0001-8805-8263	Firmado electrónicamente por: ACANALES PA el 17- 12-2023 09:16:11

Código documento Trilce: INV - 1540835

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DE LOS AUTORES	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	7
III. METODOLOGÍA	17
3.1. Tipo y diseño de investigación	17
3.2. Variables y Operacionalización	17
3.3. Población, muestra y muestreo	19
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	20
3.5. Procedimientos	21
3.6. Método de análisis de datos	58
3.7. Aspectos éticos	58
IV. RESULTADOS	59
V. DISCUSIÓN	88
VI. CONCLUSIONES	93
VII. RECOMENDACIONES	95
REFERENCIAS	96
ANEXOS	105

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Método de recolección de datos	20
TABLA 2. Puntos de muestreo	23
TABLA 3. Resultado de contabilización de UFC/ml en la inoculación de la bacteria al suelo.	59
TABLA 4. Resultado de tiempo óptimo de reducción de Cd y Pb.....	60
TABLA 5. Resultado del parámetro físico del color antes y después del tratamiento	62
TABLA 6. Resultado de la determinación de T°, pH y CE antes y después del tratamiento.....	62
TABLA 7. Resultados de la determinación de la Humedad antes y después del tratamiento.....	65
TABLA 8. Resultado de la determinación de la Materia Orgánica antes y después del tratamiento	66
TABLA 9. Resultado de la determinación de la densidad real y aparente antes y después del tratamiento.....	68
TABLA 10. Resultado de la determinación de porcentaje de reducción de Cd y Pb	70
TABLA 11. Resultado de la determinación de reducción de Cd y Pb después del tratamiento.....	72
TABLA 12. Prueba de normalidad del pH	75
TABLA 13. Prueba ANOVA del pH.....	75
TABLA 14. Prueba de normalidad de la CE	76
TABLA 15. Prueba de ANOVA de CE	77
TABLA 16. Pruebas de normalidad de la Materia orgánica	78
TABLA 17. Prueba ANOVA de la Materia orgánica	79
TABLA 18. Prueba de normalidad de la Temperatura	80
TABLA 19. Prueba ANOVA de la Temperatura.....	81
TABLA 20. Prueba de normalidad de la Humedad.....	82
TABLA 21. Prueba ANOVA de la Humedad	83
TABLA 22. Prueba de normalidad de la densidad real.....	84

TABLA 23. Prueba ANOVA de la densidad real	85
TABLA 24. Prueba de normalidad del Pb.....	86
TABLA 25. Prueba ANOVA del Pb	86
TABLA 26. Prueba de normalidad del Cd	87
TABLA 27. Prueba ANOVA del Cd.....	88
TABLA 28. Operacionalización de Variables	106

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Esquema de procedimiento de la investigación.	21
FIGURA 2. Ubicación de la empresa CAICAH	22
FIGURA 3. Método de rejillas regular.....	23
FIGURA 4. Proceso de toma de muestra de suelo.....	23
FIGURA 5. Partición de muestras-MINAM.	24
FIGURA 6. Proceso de toma de muestras	25
FIGURA 7. Proceso de secado de la muestra de suelo	26
FIGURA 8. Proceso para clasificar el color del suelo	28
FIGURA 9. Proceso de la determinación del pH	29
FIGURA 10. Determinación de la humedad en el suelo.	31
FIGURA 11. Determinación de la materia orgánica.	33
FIGURA 12. Determinación de la densidad real.	35
FIGURA 13. Determinación de la densidad aparente.....	37
FIGURA 14. Preparación del Agar Cetrlmida	40
FIGURA 15. Se colocó en la autoclave por 15 minutos.....	41
FIGURA 16. Se retiró la cepa del tubo de ensayo.....	41
FIGURA 17. Se usó el método de estría en 3 campos.....	42
FIGURA 18. Retiro de la bacteria para ponerlo sobre el portaobjeto.....	42
FIGURA 19. Violeta de genciana y lavado sobre el portaobjeto.....	43
FIGURA 20. Lugol sobre el portaobjeto para fijar el color por 1 minuto.....	43
FIGURA 21. Safranina sobre el portaobjeto por 1 minuto.....	44
FIGURA 22. Identificación de la Bacteria P.A.....	44
FIGURA 23. Cultivo de la tierra inicial.....	46
FIGURA 24. Se colocó 9 tubos codificados.....	47
FIGURA 25. Se colocó solución salina.....	47
FIGURA 26. Se vertió la dilución en los maceteros.....	48
FIGURA 27. Cultivo y contabilización de UFC.....	51
FIGURA 28. Determinación del color	52
FIGURA 29. Determinación de T°, pH y CE.....	53
FIGURA 30. Determinación de la Humedad.....	54
FIGURA 31. Determinación de la Materia Orgánica.....	55

FIGURA 32. Determinación de la densidad Real.....	56
FIGURA 33. Determinación de la densidad aparente.	57
FIGURA 34. Tiempo y contabilización de dosis de la bacteria inoculada al suelo a dilución óptima	60
FIGURA 35. Resultados de tiempo óptimo de reducción del Pb.....	61
FIGURA 36. Resultados de tiempo óptimo de reducción del Cd.	62
FIGURA 37. Análisis físico de la T° a los 5, 10 y 15 días.....	64
FIGURA 38. Análisis químico del pH a los 5, 10 y 15 días	64
FIGURA 39. Análisis químico de la CE a los 5, 10 y 15 días	65
FIGURA 40. Análisis físico de la humedad a los 5,10 y 15 días.	66
FIGURA 41. Análisis químico de la Materia Orgánica a los 5,10 y 15 días	68
FIGURA 42. Análisis de la Densidad real a los 5, 10 y 15 días de tratamiento.	69
FIGURA 43. Análisis físico de la densidad aparente a los 5, 10 y 15 días	70
FIGURA 44. Porcentaje de reducción del plomo (Pb)	71
FIGURA 45. Porcentaje de reducción del cadmio (Cd).....	72
FIGURA 46. Reducción del Cd por la P. Aeruginosa	73
FIGURA 47. Reducción del Pb por la P. Aeruginosa	74

RESUMEN

En el Perú, como consecuencia de las actividades antropogénicas realizan el uso excesivo de fertilizantes y plaguicidas en los suelos agrícolas llevándonos así a una preocupación por nuestro ecosistema ya que se ve afectado las plantas al consumir estos minerales que les proporciona la tierra, sus tallos, sus hojas y sus frutos terminan de contaminarse y nosotros al consumir llevamos a nuestros organismos metales pesados que al final resultan tóxicos para nuestra salud y muchas veces cancerígenos. Por tal motivo enfocamos el presente estudio en una técnica eficiente que no causa daños o no traiga consecuencia a largo plazo, utilizando la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* donde buscamos reducir la mayor cantidad de estos metales pesados como Cadmio y Plomo que se encuentran muchas veces en nuestros suelos agrícolas. Como resultado se obtuvo una reducción promedio de a los 5 días Plomo 33.60 ppm y Cadmio 1.36 ppm, a los 10 días Plomo 34.61 ppm y Cadmio 0,05 ppm y a los 15 días Plomo 28.65 ppm y Cadmio <0.33 ppm. Concluyendo que los resultados óptimos de reducción fueron de 10 días con un porcentaje de 96% Cd y Pb de 11.79% de reducción y a los 15 días con un mayor del 80% de Cd y Pb un 27% de reducción de estos metales pesados.

Finalmente, el presente trabajo de investigación muestra con eficacia el método de reducción de suelos contaminados por metales pesados aplicando la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*.

Palabras clave: Reducción, *pseudomona*, *aeruginosa*.

ABSTRACT

In Peru, as a consequence of anthropogenic activities, the excessive use of fertilizers and pesticides in agricultural soils leads to a concern for our ecosystem, since plants are affected by consuming these minerals provided by the earth, their stems, leaves and fruits end up being contaminated and when we consume them we take heavy metals to our bodies, which in the end are toxic to our health and often carcinogenic. For this reason we focused this study on an efficient technique that does not cause damage or bring long-term consequences, using the bacterium *Pseudomona Aeruginosa* where we seek to reduce the highest amount of these heavy metals such as Cadmium and Lead that are often found in our agricultural soils. As a result an average reduction of 5 days Lead 33.60 ppm and Cadmium 1.36 ppm, 10 days Lead 34.61 ppm and Cadmium 0.05 ppm and 15 days Lead 28.65 ppm and Cadmium <0.33 ppm was obtained. Concluding that the optimum reduction results were 10 days with a percentage of 96% Cd and Pb of 11.79% reduction and at 15 days with a greater than 80% of Cd and Pb a 27% reduction of these heavy metals.

Finally, the present research work effectively shows the method of reduction of soils contaminated by heavy metals by applying the bacterium *Pseudomona Aeruginosa*.

Keywords: Reduction, *Pseudomona aeruginosa*.

I. INTRODUCCIÓN

Para Suarez et al. (2023) la polución del suelo por metales pesados es una preocupación ambiental a nivel mundial. Una de las fuentes de contaminación del suelo es la minería ya que los metales pesados y metaloides (HMM) se consideran una gran amenaza para los seres abióticos debido a su persistencia a largo plazo en el suelo, provocando cambios en las características funcionales de las plantas y en la comunidad de microorganismos.

Ridene, Sirene et al. (2023) Señala que la minería se encuentra entre las actividades industriales que impactan a todo nuestro ecosistema y a todos los seres que habitan dentro de ella, estos metales pesados que se localizan en el suelo provocan grandes emisiones ya que su alto nivel de sustancias químicas puede alterar gravemente a nuestro entorno natural.

Según Lu Tang et al. (2023) La degradación de la calidad del suelo y del agua subterránea causada por actividades industriales es una preocupación generalizada, siendo así que en los últimos años la contaminación por áreas contaminadas por metales pesados ha evolucionado tanto que hay muchas investigaciones en torno a estos tres pilares: análisis de componentes principales (ACP), la factorización de matrices positivas (PMF) y los mínimos cuadrados alternos ponderados (WALS), donde se incluyen las características de distribución, de la fuente y el comportamiento geoquímico del contaminante para así llegar a aumentar el volumen de remediación por metales pesados.

Una de las primordiales causas de la polución del suelo es a consecuencia de los metales pesados; si bien estos se pueden encontrar de una forma natural, pero cuando llegan a alterar de una manera antropogénica, ya sea utilizando fertilizantes, pesticidas, etc. Esto altera la composición química del suelo haciendo que su funcionalidad y calidad se vea perjudicada, sobre todo cuando se trata de un suelo agrícola que se encarga de la productividad de los alimentos, considerándose tóxico (Eugenia, N. et al., 2019).

Soto, M. et al. (2020) manifiestan algunos metales en concentraciones bajas son esenciales para las funciones metabólicas en los humanos; pero hay metales que tienen efectos que no son adecuados ni beneficioso para la salud humana como el Cr y Cd siendo considerados elementos cancerígenos (p. 50).

La acumulación de Plomo (Pb) en diversas partes puede dificultar el crecimiento de las raíces, crecimientos poco desarrollados o folíolos, provocando ennegrecimiento del sistema radicular y clorosis, incluso en bajas concentraciones (Kaur, et al., 2019).

Wang et al. (2019) manifiesta que teniendo en cuenta las circunstancias que hay actualmente, se han establecido métodos para remediar suelos contaminados y estimar el alcance de la contaminación por metales pesados.

Se han realizado muchos estudios sobre tecnología para tratar suelos contaminados con metales, tales como extracción electrocinética, recubrimiento de superficies, fijación química, encapsulación del suelo, lavado del suelo, solidificación, vitrificación y biorremediación (Khan, et al., 2021).

Estos métodos de remediación tienen como objetivo reducir la cantidad más alta o biológicamente disponible de metales pesados en el suelo. Aunque muy eficaces, la mayoría de estos métodos son costosos, perjudiciales para el medio ambiente y requieren mucho tiempo (Solan, et al., 2021, p.2).

En el Perú, una de las principales preocupaciones que existe es la polución por metales pesados como por ejemplo uno de los metales pesados más contaminantes es el Cadmio, metal no esencial para todo ser vivo; siendo así muy tóxico. La polución de Cadmio en los suelos a finales del siglo XX ha sido un contaminante muy perjudicial ya que llegó a afectar progresivamente todos los ecosistemas (Zapata, J., 2019).

Según Correa, O. et al. (2021) explican que las cuencas y microcuencas de las zonas andinas como del río Huancaray – Perú son la principal fuente de producción agrícola y captación del agua para el consumo de los agricultores. Asimismo, en estas áreas suelen establecerse pueblos y ciudades, por lo que es necesario cuantificar la presencia de metales ya que una de las características de los suelos andinos es su riqueza mineral, por esta razón existe muchas inversiones extranjeras en minería ya que muchas veces se ubican en las cabeceras de cuencas hidrográficas, territorios que pertenecen a los agricultores que poseen enormes riquezas ya que la naturaleza les ha permitido convivir en estos espacios durante años. Las regiones andinas son conocidas por tener altas concentraciones de minerales, razón por la cual hay altas concentraciones de metales allí, incluso cuando no hay minería. Por ejemplo, utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica de llama¹², descubrió que las aguas de siete ríos de la cuenca del Mantaro, ubicada en la sierra central del Perú, contenían metales pesados Cu, Fe, Pb, Zn y As.

La exportación de Cacao, es actualmente una de las industrias más importantes del Perú porque proporciona empleo a numerosas familias peruanas. Sin embargo, en Satipo-Junín, los niveles de metales pesados como Cd y Pb son muy altos porque cuando el cacao se exporta al mercado, corre el riesgo de contaminación por metales pesados debido al destino previsto del cacao. Como resultado, es aconsejable abstenerse de cultivar cacao en tierras contaminadas con Pb y Cd (Jimmy Huamani, et al., 2021).

Según Velásquez, M. et al. Indica que la concentración de Cd en suelo afecta tanto al tejido de la planta como a su fruto, por ejemplo, en San Martín - Lamas, Perú. En un estudio realizado a unas fincas cacaoteras encontraron en suelo concentraciones de Cd de 0,3 y 0,43 ppm, en la hoja osciló entre 0,35 y 1,62 ppm y en el grano entre 0,075 y 0,88 ppm superando así los LMP, no cumpliendo de esta manera la normatividad europea (2022).

El Diario Oficial de la Unión Europea, establece que “El Reglamento UE N°488/2014 que presentado en mayo de 2014, establece que los

productos de Cacao y Chocolate para su exportación deben tener límites de 0,10 a 0,80 ppm de Cadmio y Plomo. Reglamento que se viene cumpliendo desde el 01 de enero del 2019, hasta la fecha de hoy en día.

La producción de Cacao tiene mucha importancia económica en el Perú y en todos los países que la exportan, colocándose así en el octavo puesto de mayor exportación al exterior, por lo que es fundamental que todos los países cumplan con los límites establecidos y así la exportación de estos productos no estén contaminados por Plomo y Cadmio ya que el continente principal del mercado es Europa (Meter, A. et al., 2019).

Por ello, para la reducción de Cd en suelos presentan diversas alternativas de solución, siendo uno de ellos el uso de la flora microbiana, contribuyendo a eliminar los contaminantes orgánicos y metálicos, ayudando eficazmente a erradicar la toxicidad de U, Pb, Ni, Fe, Cu, Cr, Cd y Ar de suelos agrícolas contaminados (Haider, F. et al., 2021, p.14).

La bacteria, puede formar una entidad indispensable con el sistema de raíces de la planta para promover la desintoxicación, siendo así que la planta será beneficiada ya que la tasa de supervivencia, de crecimiento y resistencia de las plantas puede aumentar mejor. Además, los microorganismos optimizan la zona radicular transformando a los metales pesados y al mismo tiempo promueve el crecimiento de las plantas, siendo así que la biomasa mejora las condiciones de vida de las plantas. Por lo tanto, realizar investigaciones sobre tratamientos biológicos es de suma importancia para dilucidar el mecanismo de descontaminación microbiana vegetal de compuestos especialmente contaminados por metales pesados ya que esto representa una gran amenaza para la sociedad (Asad, et al., 2019, p. 2).

Por ello, Luján, D. (2019) manifiesta que la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*, tiene alta facultad de resistencia al Plomo y al Cadmio, teniendo la suficiente capacidad de biorremediar suelos contaminados por metales pesados que llegan afectar hasta su biota.

Por esta razón, se tendrá como **problema general**, ¿La *Pseudomona Aeruginosa* reducirá la concentración de Cadmio y Plomo en el suelo agrícola de la empresa CAICAH en Tingo María? Y como **problemas específicos** serán, ¿Cuántas Unidades Formadoras de Colonia por mililitro de *Pseudomona Aeruginosa* serán necesarios para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en los suelos agrícolas de la empresa cacaotera CAICAH en Tingo María?, ¿Cuál es el tiempo óptimo de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en los suelos agrícolas de la empresa cacaotera CAICAH en Tingo María?, ¿Cuáles son las características físico – químicas del suelo agrícola antes y después del tratamiento de *Pseudomona Aeruginosa* en la empresa CAICAH en Tingo María? Y ¿Cuál es el porcentaje de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) mediante la *Pseudomona Aeruginosa* en los suelos agrícolas de la empresa CAICAH en Tingo María?

La investigación de este proyecto pretende reducir la concentración de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) del suelo agrícola de la empresa CAICAH, empleando la aplicación de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* con el fin de remediar el suelo y recuperar su calidad para la producción de cacao beneficiando a la vez a la organización para la adecuada producción de este fruto. Este proyecto demostrará a la vez la eficiencia de esta bacteria en suelos contaminados por Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) dando a conocer un método más eficiente para la recuperación de suelo a través de la disminución de la concentración de estos metales. Desde el punto de vista social, es de gran relevancia ya que la producción de Cacao tendrá un fuerte componente ambiental, al tener la mínima capacidad de asimilación de Cadmio y Plomo, apuntando a un producto orgánico y de alta rentabilidad económica.

El **objetivo general** de este estudio es Evaluar la reducción de Cd y Pb por la *Pseudomona Aeruginosa* en el suelo agrícola de la empresa CAICAH en Tingo María y los **objetivos específicos** son, Determinar las Unidades Formadoras de Colonia por mililitro de *Pseudomona aeruginosa* que reduce de manera óptima el Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en los suelos agrícolas de la empresa cacaotera CAICAH de Tingo María, Determinar el

tiempo óptimo de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en los suelos agrícolas de la empresa cacaotera CAICAH en Tingo María, Determinar las características físico – químicas del suelo agrícola antes y después del tratamiento de *Pseudomona Aeruginosa* en la empresa CAICAH y Determinar el porcentaje de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) mediante la *Pseudomona Aeruginosa* en los suelos agrícolas de la empresa CAICAH en Tingo María.

Como hipótesis general se tendrá que la aplicación de la *Pseudomona Aeruginosa* reduce las concentraciones de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en el suelo agrícola de la empresa CAICAH – Tingo María.

II. MARCO TEÓRICO

Oziegbe et al. (2021) en su investigación cuyo objetivo fue determinar el resultado de la fuente de carbono y el pH sobre los potenciales de remediación de metales pesados (Cd y Pb) de los aislados bacterianos autóctonos seleccionados obtenidos de vertederos seleccionados en el estado de Lagos, Nigeria, para obtener los máximos efectos de remediación. Fue un estudio de tipo cuantitativo, cuya población fueron los suelos de vertederos de Lagos, Nigeria; cuya muestra abarco 3 vertederos: Eran Olusosun, Solous II y Solous III, donde se recolecto a una profundidad de 0 a 15 cm al azar, se utilizó las bacterias *P. Aeruginosa*, *K. edwardsii* and *E. cloacae* para la remediación de estos suelos concluyendo lo siguiente: *Pseudomonas Aeruginosa* mostró la mayor capacidad de biorremediación entre los aislados bacterianos con porcentajes de remediación de 58.80% y 33.67% a 50 mg Cd L-1 y 300 mg Pb L-1, respectivamente. Los porcentajes más altos de remediación fueron (79.87% y 92.41%) en un tiempo de 8 días después de la incubación. Se observó que mediante la adición de una fuente de carbono (5 g/L) y cambiando el pH en ambientes contaminados con metales pesados hay una mayor reducción. Concluyendo que la fuente de carbono y un rango de pH de 5 a 8 mejora el potencial de biorremediación de metales pesados por *Pseudomonas Aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella edwardsii*, haciendo que las bacterias puedan degradar eficientemente la mayoría de los contaminantes del suelo dentro de este rango de pH. proporcionando así una recuperación efectiva de suelos contaminados y el rendimiento de los cultivos.

Ni G et al. (2021), en su investigación cuyo objetivo fue evaluar el papel de Selenio y la *P. Aeruginosa* en la eliminación de NP (nonilfenol) y Cd, analizando las diferencias de la actividad enzimática del suelo y grupos funcionales, monitoreando el proceso dinámico de toda la comunidad microbiana y explorando diferentes especies en diferentes ambientes y sus roles en la remediación de la contaminación, donde se agregaron a los suelos contaminados y se inocularon la cepa de *P. Aeruginosa* (1×10^8 UFC/g de suelo) en cada maceta por separado, se mezclaron bien y se

sembraron después de 2 días de estabilización. Luego se sembró después de remojar durante 12 h en agua desionizada, 60 semillas por cada maceta, y las semillas se esparcieron sobre la superficie del suelo y cubrieron la tierra. Las plantas crecieron durante 60 días, realizándose un total de 9 tratamientos, cada tratamiento realizado por cuadruplicado. Después de la siembra, se tomaron muestras de los suelos cada 30 días y el suelo presentó las siguientes propiedades: pH 5.99, materia orgánica 9.39 g kg⁻¹, nitrógeno hidrolizable alcalino 41,07 mg kg⁻¹, fósforo disponible 22.28 mg kg⁻¹, potasio disponible 160 mg kg⁻¹ y Cd total 1.48 mg kilos⁻¹. La tasa de remoción de NP y Cd fueron 79.6% y 49.4%, respectivamente. La aplicación de *P. Aeruginosa* más Se redujo la adsorción de Cd y NP a través de C – O y Si – O – Fe del suelo, cambió la actividad enzimática y también afectó la tendencia cambiante de la comunidad microbiana en el suelo. *Pseudomonas*, *Sphingomonadales*, *Nitrospira* y otras bacterias beneficiosas se enriquecieron después de un período de 60 días con tratamiento con *P. Aeruginosa* y Se, promoviendo así la eliminación de NP y Cd.

Según Rojas, M. y Rengifo, N. (2020). En su investigación cuyo objetivo fue evaluar el uso de la *P. Aeruginosa* para la biodegradabilidad de petróleo en aguas que estarían siendo contaminadas por empresas petroleras que están ubicadas en Ucayali donde se extrajeron 4 muestras de ese laboratorio luego se realizó un ensayo de biodegradabilidad del petróleo en un tiempo de una semana, para esto se utilizaron 0.1 ml de petróleo en 9.9 ml de la solución de trabajo de caldo pre-enriquecido, finalmente se realizaron 7 muestras para la biodegradación a nivel macro. En 7 botellas de 500 ml se vertieron 250 ml de caldo pre enriquecido; 7.5 ml de petróleo y 14 ml de caldo nutritivo activo, se pusieron a baño maría a 37 °C con una constante agitación durante una semana, teniendo como resultados de porcentaje de reducción finales de 82.65%, 81.41%, 80.33%, 81.16% en las 4 muestras durante un tiempo de tratamiento de una semana, el crudo utilizado es de grado API 0.91 gr/cm³ y las UFC para la degradación óptima del petróleo fueron de 38 x 10⁻⁹ UFC/ml y 257.36 x 10⁻⁸ UFC/ml, método realizado por la rejilla.

Según Raja, E. (2018). En su investigación tuvo como objetivo dar a conocer sobre una estrategia eficiente como lo es la remediación microbiana, que sirve para eliminar los metales pesados tanto del agua, suelo, sedimentos, etc. Dando a conocer que la bacteria *P. Aeruginosa* es resistente tanto a los metales pesados, detergentes, antibióticos y los disolventes orgánicos. Se concluyó que la *P. Aeruginosa* es una de las bacterias resistentes al Cd y son de alta tolerancia a diferentes regímenes ambientales, utilizándose como biosorbente eficaz para la eliminación y recuperación de Cd, Cu y Pb en aguas contaminadas, teniendo mayor capacidad de adsorción en soluciones acuosas a un pH ácido de 5 a 6 pudiendo eliminar eficientemente el 94.7% de Cd de la solución en 60 minutos. A su vez, indica que las Pseudomonas pueden aislarse y seleccionarse por su potencial que tiene para promover el crecimiento de las plantas y la acumulación de metales pesados por parte de estas. La inoculación al suelo contaminado con Cd con bacterias tolerantes a los metales como lo es la Pseudomona, no sólo da protección a las plantas contra los efectos tóxicos de los metales pesados, sino que también aumenta significativamente el crecimiento en las plantas elevando la biomasa de brotes, raíces y el contenido de clorofila de las hojas.

Según Julián, A. (2023). En su investigación tuvo como finalidad realizar la biorremediación en suelo y agua contaminados con hidrocarburos usando *Pseudomonas Sp.* Siendo 5 muestras con 10 repeticiones por 3 meses, siendo evaluado el tratamiento cada mes, haciendo un total de 50 repeticiones con concentraciones de 1%, 2%, 3%, 4% y 5% de hidrocarburos respectivamente, a los cuales se le inoculo la bacteria P. Sp, que consta de 10 ml de agua destilada, 10 asadas del cultivo puro de P.Sp y 1 g de nutrientes orgánicos para lo que es en biorremediación de suelo. Dando como resultado un 30%, 25% y 43% de biorremediación por cada mes respectivamente al haber inoculado la bacteria y siendo mayor reducción en el último mes; siendo en general por los 3 meses un 98% de biorremediación en el suelo.

Jimmy Huamani et al. (2021) en su investigación cuyo objetivo fue determinar si el nivel de contaminación de Cd y Pb en el suelo está por debajo de los estándares establecidos por el Ministerio del Ambiente (MINAM), por lo que las muestras de suelo empleadas en esta investigación fueron recolectadas a una profundidad de 30 cm del suelo agrícola. Se programaron muestras de 1 kg de cada una aproximadamente, una vez seca la muestra se realizó la operación de molienda utilizando un molino de jarra, ideal para molienda húmeda o seca, los datos obtenidos en este estudio confirmaron que en el caso del suelo la concentración promedio de Cd fue de 1.25 mg/kg, lo cual está por debajo de los estándares permisibles del MINAM de 1.4 mg/kg. La concentración promedio de Pb fue de 19.44 mg/kg, la cual también es inferior a la norma del MINAM.

Xu et al. (2019) en su investigación que tuvo como objetivo realizar y dar un nuevo biosorbente microbiano con una capacidad alta para el Cd²⁺, que se pueda utilizar para remediar masas de agua contaminadas con metales pesados. De ahí, se comparó el Cd²⁺ con biosorción por biomasa viva y no viva de la cepa 375 y analizó el mecanismo de biosorción siendo de metodología cuantitativa y teniendo como resultados que, en este estudio, la nueva cepa con alta resistencia al Cd, designada como *Pseudomonas* a. cepa 375, se obtuvo de suelo contaminado con metales pesados. Las células vivas y no vivas de *Pseudomonas sp.* La cepa 375 mostró una capacidad de absorción significativa para el Cd²⁺. Las capacidades máximas de biosorción de células vivas y no vivas de Cd²⁺ fueron 92.59 mg g⁻¹ y 63.29 mg g⁻¹, respectivamente. Tratar efectivamente con Cd²⁺ solución acuosa contaminada indicó que la *Pseudomonas sp.* La cepa 375 es un biosorbente prometedor para la biorremediación del metal pesado Cd²⁺.

Ridene S. et al. (2023) cuya investigación tuvo como objetivo hacer dos pruebas de suelo estéril y no estéril, las muestras de suelo que se tomaron en una zona muy contaminada con metales pesados, las muestras se recogieron de 0 a 20 cm por debajo de la superficie del suelo, por el método de muestreo quincunx, después se tamizaron (malla de dos mm), se mezclaron y se transportaron al laboratorio en botellas estériles a 4°C, de

acuerdo con la norma de muestreo ISO 19458 las cepas bacterianas utilizadas en la biorremediación por bioaumentación de suelos contaminados con Pb son: *P. stutzeri* cepa LBR y *C. metallidurans*. Estas cepas bacterianas aisladas se trasplantaron al medio de cultivo PCA y se incubaron a 37°C durante 24-48 horas. Tras la incubación, estas cepas se mantuvieron en glicerol a -80°C para su conservación en el caso del suelo estéril, esterilizándolo en autoclave a 120°C durante 15 min. En un matraz se mezclaron 10 g de tierra se mezclaron con 500 mL de medio M9 esterilizado, después se inocularon 70 x 10⁹ células bacterianas. Inoculadas, cada cinco días se realizaron los recuentos bacterianos, finalmente demostrando que la combinación de resistencia a metales pesados mejora la capacidad de bioprecipitación de metales. Por lo tanto, se ha demostrado que las mezclas bacterianas son el método de biorremediación microbiana más eficaz en la biorremediación microbiana. (pp.3-15).

Paz P. (2019) en su tesis planteo como finalidad disminuir las concentraciones de Pb y Cd que se encuentra en el suelo del campamento minero inoculando la *Pseudomona putida* para la recuperación de la calidad del suelo utilizando el método en bloques completos aleatorizados, el cual constaba de 4 tratamientos con 3 repeticiones y una unidad de control siendo 13 macetas con capacidad de 1.5 kg cada una con un tiempo de 6 semanas; teniendo como resultado que en el tratamiento N°4 con la dosificación de 50 ml de agua destilada con *P. Putida* fue la más óptima reduciendo el Pb y Cd a 847.43 mg/Kg en comparación con los análisis iniciales reduciendo en un 38%.

Vladimir Lapcik (2023) en su investigación que tuvo como objetivo determinar la tolerancia a los metales pesados de *P. Aeruginosa*, realizo un estudio donde utilizo metales como Al, Cd, Pb y Zn en diversas concentraciones (10,25,50,75 y 100mg ml⁻¹) en un medio de Sal Broth (MSB) Alrededor de 100 µL de *P. Aeruginosa* (fase logarítmica) donde se cultivaron en 100 mL de medio bien esterilizado en autoclave y diferentes concentraciones (10-100 mg mL⁻¹) de metales de ensayo (Al, Cd, Pb, y Zn) suplementados individualmente en un medio MSB que contenía 250 mL por

triplicado. Cada matraz Erlenmeyer se incubó durante 2 días a 37 ± 1 °C con 120 rpm en un incubador de agitación orbital. El patrón de absorbancia del aislado bacteriano de la dosis individual de cada metal se registró a 600 nm empleando un espectrofotómetro UV. Los resultados del análisis de DO revelaron que *P. Aeruginosa* presentaba una tolerancia a los metales dependiente de la dosis. En efecto, a medida que aumentaba la concentración, el crecimiento de *P. Aeruginosa* se reducía progresivamente, Curiosamente, *P. Aeruginosa* mostró tolerancia hasta 100 mg mL⁻¹, así como propiedades esenciales para generar el crecimiento de la flora como la secreción de sideróforos e IAA, la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos.

GUANG-YU, Shi (2020) en su investigación que tiene como principal objetivo la biorremediación de metales pesados a través de la *Pseudomona Aeuroginosa* utilizando las tierras de cultivo seleccionando la capa superior del suelo 0.20 cm para saber las propiedades del pH del suelo que era de 6.16 Tras el secado natural al aire, se eliminaron previamente las impurezas del suelo y se utilizó un tamiz de 100 mallas para preparar la tierra para su uso, luego se midió los valores de fondo de Cu, Pb y Cd en el suelo teniendo como valores de 28.4, 38.55 y 0.27 mg kg⁻¹ respectivamente. Luego sembraron las semillas del ray-grass desinfectaron en una solución de H₂O₂ al 10% durante 20 minutos y se seleccionaron las plántulas con tamaños y alturas similares en macetas con 15 plántulas en cada una, finalmente se inoculó *P. Aeruginosa* en la solución nutritiva y se cultivó en un agitador de 150 min⁻¹ durante 24 h. Dando como resultado que la contaminación por compuestos de diversos metales pesados tuvo un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento del ray-grass. de *P. Aeruginosa* y pudo mejorar notablemente la actividad de la catalasa y la ureasa, y la fertilidad del suelo contaminado. Además, la inoculación de *P. Aeruginosa* también optimizó el crecimiento de las plantas el entorno de la rizosfera en el suelo contaminado.

Hay **metales pesados** que son considerados importantes para el desarrollo de la vegetación ya que requieren de sus micronutrientes, como el Cu, Fe, Mn y Zn, pero hay otros como el Cd y Pb, que así teniendo bajas concentraciones son muy dañinos para las plantas y altamente tóxico en los suelos. Esta contaminación Global que tiene el suelo es a consecuencia de las actividades mineras, siendo así que llegan afectar el desarrollo de las plantas y la pérdida de la cobertura del suelo (Lucila Perales, 2021).

El **Cadmio (Cd)** es un elemento muy dañino ya sean en concentraciones bajas ya que tienen impacto agudo y crónico en todo nuestro ecosistema que lo habitan. Debido a las actividades realizadas por el hombre, se cree que cada año se liberan al medio ambiente 30000 toneladas de cadmio en 1 año. Como también en distintos lugares de todo el mundo y de nuestro país, siendo así que las concentraciones de cadmio en agua, suelo y vegetación han superado los límites establecidos (Yenisei Hernández, 2019, p. 1).

El Plomo (Pb) es un elemento que se encuentra naturalmente en los ecosistemas en altas concentraciones. Esto puede causar serios problemas a los ecosistemas de áreas urbanas o agrícolas, ya que las elevadas concentraciones de Plomo son tóxicas (Candido et al., 2020), no sufren procesos de degradación biológica y tienden a acumularse en el suelo (Shi et al., 2019).

La demasiada concentración de Cd en los **suelos** origina la limitación de la fotosíntesis en las plantas, haciendo que las plantas adsorban poca agua y nutrientes por lo tanto esto tiene como consecuencia clorosis, inhibición del crecimiento, las raíces se vuelven marrones y finalmente mueren. El Cadmio está presente en las plantas afectadas. En su procesos fisiológicos y morfológicos de las raíces, alterando la expresión de proteínas y genes (María Velásquez, 2022, p. 2).

El **pH** es un parámetro el cual expresa o mide la actividad del ion hidronio en el suelo y así mismo indica si hay alguna reacción. A pesar de que la cantidad de hidronio suele estar presente en el suelo en pequeñas

cantidades, la actividad de estos iones es muy importante para que se desarrollen los procesos microbianos y las formas químicas de elementos que están ligados al pH. Además, de que el pH influye en la disponibilidad de nutrientes, ya que la mayoría de ellos son más solubles en suelos ácidos que en neutros o alcalinos (Sadzawka, sf., p.48).

El **color** del suelo está en función a los componentes que contenga y varía de acuerdo al porcentaje de humedad, materia orgánica y grado de oxidación de los minerales presentes en él. El color del suelo suele usarse como un indicador para medir algunas propiedades del suelo, diferenciar los perfiles edáficos, determinar la presencia de materia orgánica y la presencia de sales y carbonato (UNAM, 2020, p.15).

La **densidad** del suelo está ligada al peso por volumen de este, y puede ser densidad real o aparente. La densidad aparente, muestra el comportamiento entre la estructura y porosidad del suelo en relación a agentes tanto internos como externos. Y la densidad real, está referida a su volumen o el volumen de sus partículas (Novillo, 2018, p.178).

La **conductividad eléctrica** del suelo es un indicador importante para evaluar su fertilidad y capacidad para sostener el crecimiento de las plantas. La CE se relaciona directamente con la concentración de sales solubles en el suelo, por lo que, a mayor CE, mayor concentración de sales y posiblemente menor disponibilidad de nutrientes para las plantas. Por lo tanto, medir y monitorear la CE es fundamental para determinar la calidad del suelo y tomar decisiones en el manejo de la agricultura. Los valores altos de CE pueden indicar la necesidad de implementar prácticas de gestión adecuadas, como la aplicación de enmiendas para reducir el contenido de sales o la implementación de técnicas de riego más eficientes. En resumen, la CE es un parámetro clave para evaluar la salud del suelo y garantizar un ambiente favorable para el crecimiento de las plantas (Ramírez, I. y Vargas, A., 2022, p.7).

Si la CE es < 1 dS/m o < 1000 μ S/cm en suelos de cultivo de cacao, quiere decir que está dentro del nivel óptimo (Barrazueta, S., 2019, 7).

La deficiencia de **materia orgánica** produce efectos específicos sobre diversos órganos de las plantas. Como, por ejemplo, con el lento crecimiento y la decoloración de las hojas que se asocian normalmente con la limitación de nitrógeno (Stephen, M. et al., 2022, p. 2).

La **temperatura**, es una de las primordiales causas en los procesos bióticos y químicos que ocurren en los suelos agrícolas, estos procesos pueden ir desde la absorción de nutrientes por las plantas hasta la aparición de agentes patógenos que afectan las raíces de las plantas, llegando a ser mortales, afectando en gran medida la productividad del cultivo en el campo (Mora, 2020, p.4).

La **biorremediación**, es un proceso en el cual tiene la posibilidad de que lo realicen los organismos vivos o las partes de estos que tengan el potencial genético que les permitan retener, metabolizar o cambiar los contaminantes que son de origen artificial o natural (Quispe, G. y Coral, K., 2018, p. 15).

La mayoría de las **bacterias** se clasifican en bacterias heterótrofas, estas se pueden dividir en bacterias fijadoras de N₂ y bacterias no fijadoras de N₂ y organográficas. Entre las bacterias fijadoras encontramos los géneros Azotobacter, Azospirillum, Enterobacter y Klebsiella y la Pseudomona estas producen naturalmente hormonas que estimulan el crecimiento de y la nutrición de las plantas (Pérez, 2020).

El profesor Walter Migula del Instituto Karlsruhe en Alemania del siglo XIX tuvo su primera definición del género bacteriano de la **Pseudomona** como “célula con órganos polares” para finalmente “esporas” donde serían en realidad gránulos refráctiles de materiales de reserva (Manuel Paz, et al., 2019).

En relación a la **Pseudomonas Aeruginosa**, es una bacteria multirresistente, una bacteria gran-negativa que se encuentra comúnmente en el suelo, el agua y las plantas. Esta bacteria se puede encontrar en diferentes tipos de entornos ya que puede aprovechar gran variedad de fuentes de alimentación. Debido a sus propiedades infecciosas activas, este

microorganismo ha sido incluida es la lista de las bacterias principales y muy resistentes a los medicamentos publicada por la OMS en 2017 (Maxgaux Frigoli, et al., 2023, p.1).

Sus cepas son usadas por la capacidad desintoxicante que cuenta, sobre todo de algunos contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes en los suelos, como lo son los metales pesados, el petróleo y sus derivados. El uso de esta bacteria es considerado uno de los métodos más rentables y amigables con el medio ambiente. La *Pseudomona Aeruginosa* degrada alcanos entre 11 y 40 átomos de carbono obteniendo un alto porcentaje de efectividad al remover concentraciones de Cu, As, Cd⁺², Pb⁺², Co⁺² y Cr⁺³ (Lujan, 2019, p.35).

Para realizar la contabilización de los microorganismos, se cuentan colonias entre 30 y 300 unidades, permitiendo así su cuantificación; cuando en las placas las formaciones superan las formaciones de más de 300, son considerados crecimientos masivos que el conteo no se puede realizar (Ramírez, Parra y Álvarez, 2022, p. 3-5).

La **Resistencia y Tolerancia de las Bacterias a los Metales Pesados**, en la naturaleza están presentes metales pesados, que someten a microorganismos a sobrevivir en su presencia, adquiriendo resistencia a ellos, es así como las bacterias resistentes han desarrollado la capacidad de vivir en ambientes contaminados, adquiriendo mecanismos de detoxificación, degradación y absorción de iones metálicos, para poder soportar el estrés y sobrevivir a esas condiciones (Rodríguez, 2017, p.355).

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

3.1.1. Tipo de la investigación

Fue aplicada, la cual busca generar soluciones a un determinado problema.

3.1.2. Diseño de la investigación

Fue de enfoque Cuantitativo, el diseño de la investigación fue experimental. Cómo lo define Shrutika S. (2023) el diseño experimental es un marco de protocolos y procedimientos creados para llevar a cabo investigaciones experimentales con un enfoque científico utilizando dos variables. En este caso se evaluó la variable dependiente y se manipulo la variable independiente y por último se volvió a evaluar la variable dependiente.

3.2. Variables y Operacionalización

- Variable independiente: Bacteria *Pseudomona Aeruginosa*
- Variable dependiente: Reducción de Cadmio y Plomo en suelo agrícola

3.2.1. Definición Conceptual

- Variable dependiente:

Como define la FAO (2019) (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) Los suelos agrícolas contaminados con Cd y Pb, son un riesgo para todo medio de vida rural y perjudicando a la vez a la salud humana creando riesgos en la seguridad de los alimentos siendo un gran preocupación para el medio debido a la toxicidad; las concentraciones de Cd pueden acumularse en la fauna que no son tóxicas para ellas, pero son tóxicas para los animales y las personas que los consumen. (p.81-82).

- Variable independiente:

La *Pseudomona Aeruginosa*, es un bacilo Gram Negativo muy extendido en nuestro ecosistema, el suelo y el agua, tiene pocos requisitos nutricionales. Ellas pueden vivir en condiciones no toleradas por otros organismos. No fermenta la lactosa ni otros carbohidratos, pero oxida la glucosa y la xilosa (Paul, J., 2023, p. 155).

3.2.2. Definición Operacional

- Variable dependiente:

Se determinó las características fisicoquímicas del suelo antes y después de utilizar la *Pseudomona Aeruginosa*. Además, se determinó el porcentaje de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb).

- Variable independiente

La bacteria *Pseudomona A.* se administró en dosificaciones diferentes cuyo objetivo fue determinar la cantidad óptima que logre reducir el Cd en el suelo agrícola, recontando a la vez las UFC en la placa.

3.2.3. Dimensiones e Indicadores

- Variable Dependiente

Características físico químicas del suelo al inicio y al final del tratamiento.

- Indicadores: pH, color, densidad, conductividad, materia orgánica, temperatura y humedad.
- Concentración de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) antes y después del tratamiento.
- Indicadores: Nivel de Cd y Pb con tratamiento de la *Pseudomona Aeruginosa*.

- Variable Independiente

Cantidad de bacterias

- Indicador: Número de UFC/ml de *Pseudomona Aeruginosa*.
- Tiempo del tratamiento

Indicador: Días

3.3. Población, muestra y muestreo

3.3.1. Población

La población de este estudio fue el suelo agrícola de la empresa CAICAH con un área total de 40 000 m² -Tingo María, Perú.

- Criterios de inclusión: Suelos agrícolas con concentraciones de Cadmio y Plomo de la empresa CAICAH en Tingo María.
- Criterios de exclusión: Suelos agrícolas que no contienen concentraciones de Cadmio y Plomo de la empresa CAICAH en Tingo María.

3.3.2. Muestra

Para realizar este tipo de muestra se debe tener en cuenta el marco muestral; en este caso se basó en los estudios previos sobre los niveles de concentración de Cd y Pb realizados por la empresa CAICAH. Se tomaron un total de 20 kg de suelo.

3.3.3. Muestreo

Fue probabilístico, ya que según Kassiani N. (2023) define como un método de muestreo que se basa recopilar aleatoriamente una muestra o una parte de la población que se desea evaluar.

Se aplicó el muestreo aleatorio simple superficial, ya que según la Guía para muestreo de suelos en el marco del DS N° 002-2013-MINAM, Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, indica que para áreas que son homogéneas menores a 5

hectáreas se realice este tipo de patrones de muestreo para definir la localización, la selección de estos puntos garantiza que cada uno de ellos tenga la misma probabilidad de ser seleccionado.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

En la **Tabla 1** se describen las técnicas y los instrumentos que se utilizaron en la investigación.

TABLA 1. Método de recolección de datos

ETAPA	FUENTE	TECNICAS	INSTRUMENTOS	RESULTADOS
Localización del Lugar de estudio.	Suelo agrícola de la empresa CAICAH – Tingo María, Leoncio Prado.	Observación	Ficha de localización (Anexo 1)	Lugar de estudio identificado.
Obtención de la muestra de suelo agrícola antes de la aplicación del tratamiento.	Suelo agrícola de la empresa CAICAH – Tingo María, Leoncio Prado; con concentraciones de Cd y Pb.	Observación	Ficha de recolección de datos. (Anexo 2)	Recolección de 20 Kg de suelo contaminado con Cd y Pb.
Análisis de la muestra de suelo agrícola antes de la aplicación del tratamiento.	Suelo agrícola de la empresa CAICAH – Tingo María, Leoncio Prado; con concentraciones de Cd y Pb.	Observación	Ficha de características físico químicas. (Anexo 3)	Resultados de laboratorio de la Universidad César Vallejo antes del tratamiento. Resultados de laboratorio de Cd y Pb del laboratorio de suelos de la Agraria de la Molina antes del tratamiento.
Aplicación de tratamiento con la bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i> .	Suelo agrícola de la empresa CAICAH – Tingo María, Leoncio Prado; con concentraciones de Cd y Pb.	Experimentación	Ficha de conteo de bacterias y tiempo del tratamiento implementado. (Anexo 4)	Aplicación de la bacteria <i>P. Aeruginosa</i> en el suelo con Cd y Pb.
Análisis del conteo de la bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i> después del tratamiento de 5, 10 y 15 días.	Laboratorio de la Universidad César Vallejo.	Observación	Ficha de conteo de bacterias y tiempo del tratamiento implementado. (Anexo 4)	Resultados de laboratorio de la Universidad César Vallejo después del tratamiento.
Análisis final de la muestra de suelo agrícola posterior de la aplicación del tratamiento.	Laboratorio de la Universidad César Vallejo. Laboratorio de suelos de la Agraria de la Molina. Laboratorio SGS del Perú.	Observación.	Ficha de características físico químicas. (Anexo 3)	Verificación de la reducción de Cd y Pb y parámetros físicoquímicos del suelo agrícola.
Interpretación y análisis de los datos.	Gabinete	Análisis de resultados.	Anexo 3 y Anexo 4	Datos procesados e identificados.

3.4.1. Validez

La validez de los instrumentos fue evaluado a través del criterio de juicio de expertos, para lo cual se contó con el apoyo de tres docentes de la UCV:

1. Dr. Lizarzaburú Aguinaga, Danny
2. Dr. Castañeda Olivera, Carlos A.
3. M.Sc. Güere Salazar, Fiorella Vanessa

3.5. Procedimientos

Hay una serie de acciones que se siguieron para lograr la meta trazada que es reducir las concentraciones de Cadmio y Plomo en los suelos agrícolas de la empresa CAICAH, Tingo María; mediante la aplicación de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*, se ha clasificado en tres etapas, tal como se indica en la **Figura 1**.

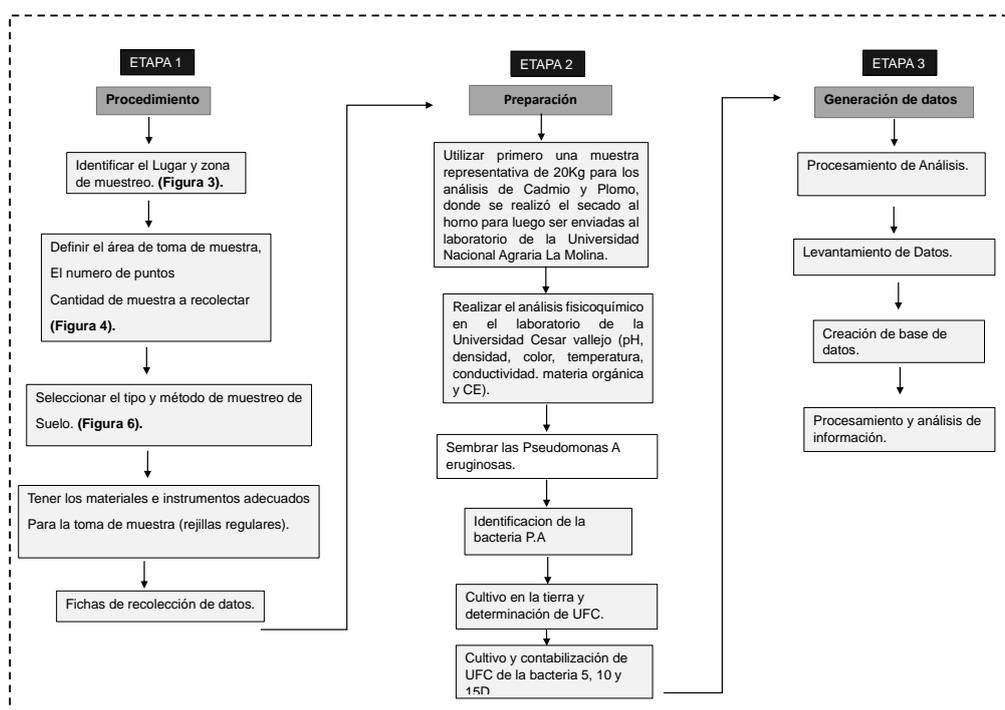


FIGURA 1. Esquema de procedimiento de la investigación.

3.5.1. Procedimiento Inicial

La empresa CAICAH está ubicada en Tingo María, en el Departamento de Huánuco, Provincia de Leoncio Prado y

Distrito de Rupa Rupa (**Figura 2**), teniendo una superficie total de 40000 m²; donde se logró identificar la zona de muestreo la cual estuvo conformada por parcelas de 2 hectáreas.



FIGURA 2. Ubicación de la empresa CAICAH

Para la selección de estos puntos de muestreo se utilizó el método de estratificación (rejillas regulares), a través de la cual se seleccionaron un total de 20 puntos como se muestra en la **Tabla 2** donde se recopiló las muestras de suelo; de acuerdo como lo indica la guía técnica (MINAM, 2014). El esquema utilizado está representando en la **Figura 3** y el proceso de ejecución en la **Figura 4**.

TABLA 2. Puntos de muestreo

Puntos	X (ESTE)	Y(SUR)	Zona
1	390449.00	8969049.00	18 L
2	390455.00	8969054.00	
3	390448.00	8969060.00	
4	390455.00	8969064.00	
5	390445.00	8969071.00	
6	390452.00	8969080.00	
7	390443.00	8969086.00	
8	390457.00	8969088.00	
9	390475.00	8969090.00	
10	390464.00	8969079.00	
11	390464.00	8969059.00	
12	390472.00	8969051.00	
13	390479.00	8969060.00	
14	390478.00	8969073.00	
15	390495.00	8969058.00	
16	390501.00	8969079.00	
17	390488.00	8969082.00	
18	390507.00	8969069.00	
19	390505.00	8969095.00	
20	390489.00	8969098.00	



FIGURA 3. Método de rejillas regular

	
<p>a. Limpiamos el primer punto de muestreo.</p>	<p>b. Utilizamos la pala para cavar el hoyo.</p>
	
<p>c. Con una profundidad de 30 cm sacamos nuestra muestra.</p>	<p>d. Colocamos las Submuestras a un costal para hacer luego el respectivo cuarteo.</p>

FIGURA 4.Proceso de toma de muestra de suelo.

Luego se utilizó la pala para cavar un hoyo en forma de V, del ancho de la misma , con una profundidad de 30 centímetros, luego en la pared del hueco se corta una tajada de suelo de 5 cm de espesor de esta forma se obtuvieron las 20 Submuestras, las que se van sacando y colocando en un costal limpio, para luego proceder a mezclar adecuadamente, y realizar el cuarteo hasta obtener el peso adecuado que constituyo la “muestra compuesta”, colocándose a bolsas herméticas, la cual fue identificada en el

campo con un plumón indeleble, dicho proceso se muestra en la **Figura 5**.

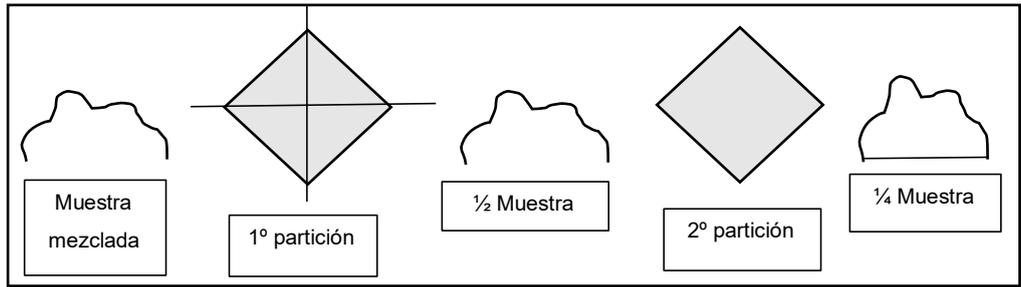


FIGURA 5. Partición de muestras-MINAM.

En la **Figura 6**, se aprecia el proceso de la toma de muestra de suelo, de acuerdo al procedimiento descrito en el párrafo anterior. Además, apreciamos la aplicación de la técnica de cuarteo, una vez acumulado las 20 muestras parciales seleccionadas, con el fin de contar con una muestra de suelo que sea representativa de la zona de interés de la investigación, obteniéndose finalmente las bolsas con las muestras de suelo para el desarrollo del análisis experimental.



	
<p>c. El segundo proceso de partición de cuarteo.</p>	<p>d. Finalmente lo colamos a bolsas herméticas, aproximadamente de 1kg de tierra, identificadas correctamente.</p>

FIGURA 6. Proceso de toma de muestras

Descripción del tratamiento de Cadmio y Plomo

Luego se segregaron la muestra de 1 kg representativos de suelo, para análisis de Cd y Pb, donde se realizó el secado al horno a una temperatura de 105°C por 3 horas, para luego ser enviadas al laboratorio de la Universidad Nacional Agraria de La Molina, dicho proceso se muestras en la **Figura 7**. Los análisis desarrollados con el espectrofotómetro Absorción atómica, nos permitió conocer las concentraciones que tienen cada una de las muestras antes de la aplicación de la técnica de fitorremediación.

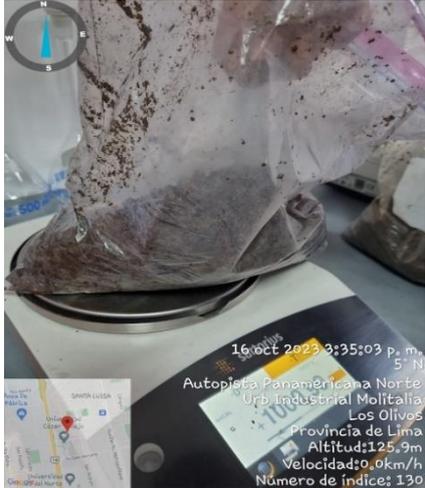
 <p>17 oct 2023 11:42:11 a. m. 133° SE 6268 Avenida Alfredo Mendiola Urb Industrial Molitalla Los Olivos Provincia de Lima Altitud: 111,2m Número de índice: 133</p>	 <p>16 oct 2023 8:35:03 p. m. 5° N Autopista Panamericana Norte Urb Industrial Molitalla Los Olivos Provincia de Lima Altitud: 125,9m Velocidad: 0,0km/h Número de índice: 130</p>
<p>a. Las muestras de suelo en el laboratorio, codificadas correctamente.</p>	<p>b. Se hizo el pesado correspondiente.</p>
 <p>17 oct 2023 11:48:07 a. m. 133° SE 6268 Avenida Alfredo Mendiola Urb Industrial Molitalla Los Olivos Provincia de Lima Altitud: 112,8m Velocidad: 0,0km/h Número de índice: 132</p>	 <p>17 oct 2023 11:19:42 a. m. 18° N 6268 Avenida Alfredo Mendiola Urb Industrial Molitalla Los Olivos Provincia de Lima Altitud: 118,0m Velocidad: 0,0km/h Número de índice: 133</p>
<p>c. La muestra representativa se colocaron a papel aluminio para ser secadas.</p>	<p>d. Finalmente se colocó al horno por 3 hrs a 105°C.</p>

FIGURA 7.Proceso de secado de la muestra de suelo

Descripción del Color

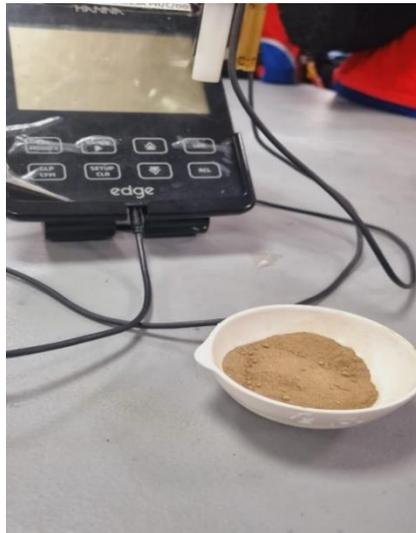
Los materiales y equipos que se utilizaron para determinar el color de la tierra:

- ✓ Cartas de Munsell
- ✓ Crisol de porcelana
- ✓ Espátula

- ✓ Estufa
- ✓ Agua destilada

Procedimiento:

1. La muestra de suelo se secó en estufa a 105°C y se colocó en la cápsula de porcelana, se comparó el color de la muestra con el de la tabla estándar hasta obtener las tres propiedades de color de suelo: matiz, brillo e intensidad cromática (**Figura 8**).
2. Posteriormente, se humedece la muestra de suelo en la placa de porcelana y se comparó, nuevamente con las tablas estándar, luego se realizó las comparaciones del suelo seco y húmedo para finalmente realizar las comparaciones con las tablas de Munsell y se tomó lectura (**Figura 8**).



a. Muestra representativa fue colocada a una capsula de porcelana para luego ser secada a la estufa por 105°C.



b. Muestra representativa.

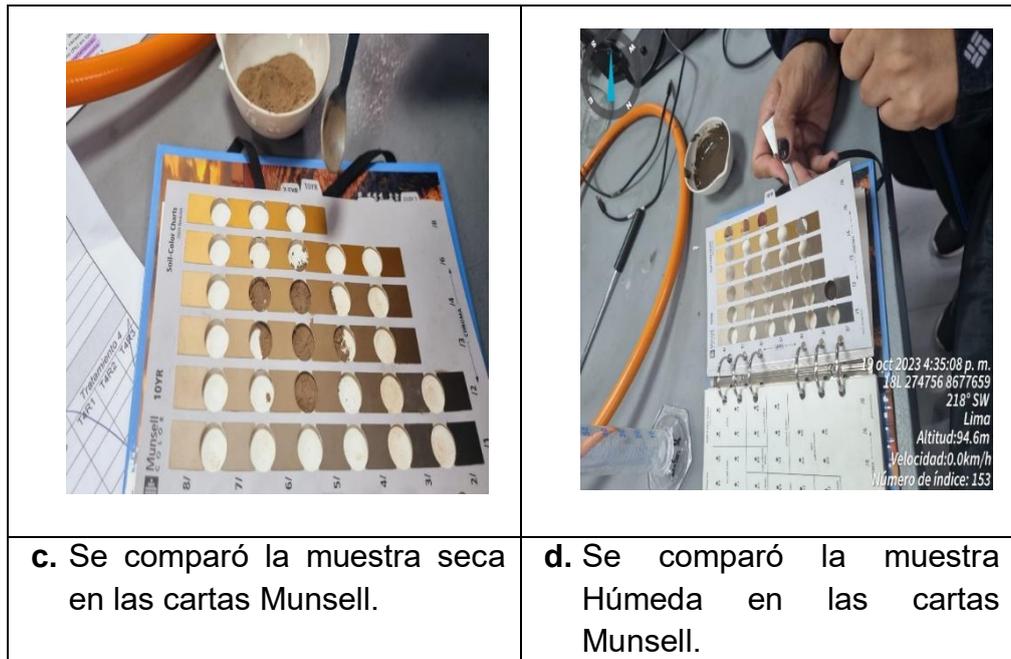


FIGURA 8. Proceso para clasificar el color del suelo

Descripción del pH, Conductividad eléctrica y temperatura

Los materiales y equipos que se utilizaron para hallar el pH, Conductividad eléctrica y temperatura fueron:

- ✓ Vaso precipitado
- ✓ Varilla
- ✓ Espátula
- ✓ Balanza
- ✓ Agua destilada
- ✓ Tubo de ensayo
- ✓ Multiparámetro

Procedimiento

1. Se colocó la muestra de 100g en un vaso precipitado, se le adiciono 100 ml de agua destilada, se agito inmediatamente con la varilla 2 min, terminada la agitación se dejó reposar por 15 min (**Figura 9**).
2. Utilizándose luego un tubo de ensayo se colocó la suspensión y se insertó los electrodos y finamente se tomaron las lecturas en el multiparámetro del pH, de la conductividad eléctrica y temperatura (**Figura 9**).

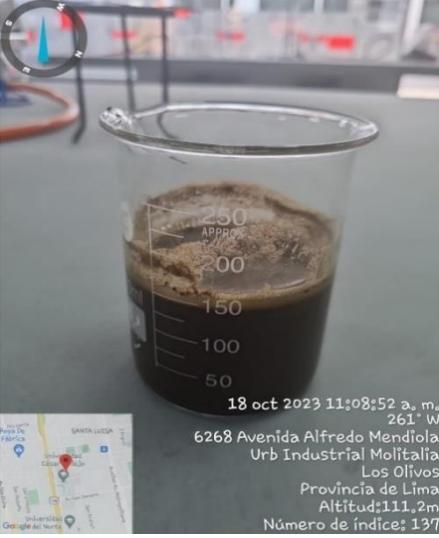
	
<p>a. 100g de la muestra representativa en un vaso precipitado.</p>	<p>b. Se añadió 100g de agua destilada, donde fue agitado por 2 min para finalmente dejarlo reposar por 30 min.</p>
	
<p>c. Tomamos lectura del pH y Temperatura.</p>	<p>d. Finalmente tomamos lectura de la conductividad eléctrica.</p>

FIGURA 9. Proceso de la determinación del pH

Descripción de la Humedad

Los materiales y equipos que se utilizaron para hallar la humedad fueron:

- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica

- ✓ Desecador
- ✓ Crisol de porcelana
- ✓ Espátula
- ✓ Pinzas

Procedimiento:

1. Se pesó el crisol de porcelana en la balanza analítica, es W_1 (**Figura 10**)
2. Se transfirió 20 g de suelo húmedo, siendo esta cantidad suficiente para suelos minerales. El peso del crisol más la muestra de suelo húmedo es W_2 .
3. Se colocó el crisol de porcelana más muestra de suelo en la estufa a 105 °C por 24 horas (**Figura 10**).
4. Se retiró la muestra de la estufa, se enfrió en el desecador durante 30 minutos. Se pesó en la balanza. El peso del crisol de porcelana más la muestra seca de suelo es W_3 (**Figura 10**).
5. Pesamos el crisol en la balanza obteniendo el peso inicial $W_1 = 43.099$ g, luego se colocó 20 g de tierra $W_2 = 63.099$ g retirándolo luego de 24 h a la estufa en 105°C, retiramos la muestra y enfriamos por 30 min en un desecador, posteriormente lo pesamos teniendo un peso de $W_3 = 58.092$ g y finalmente hallamos la humedad con la siguiente fórmula $= \left(\frac{\text{peso de agua}}{\text{peso suelo seco}} \right) * 100$. Los valores encontrados se muestran en la **Tabla 5**.

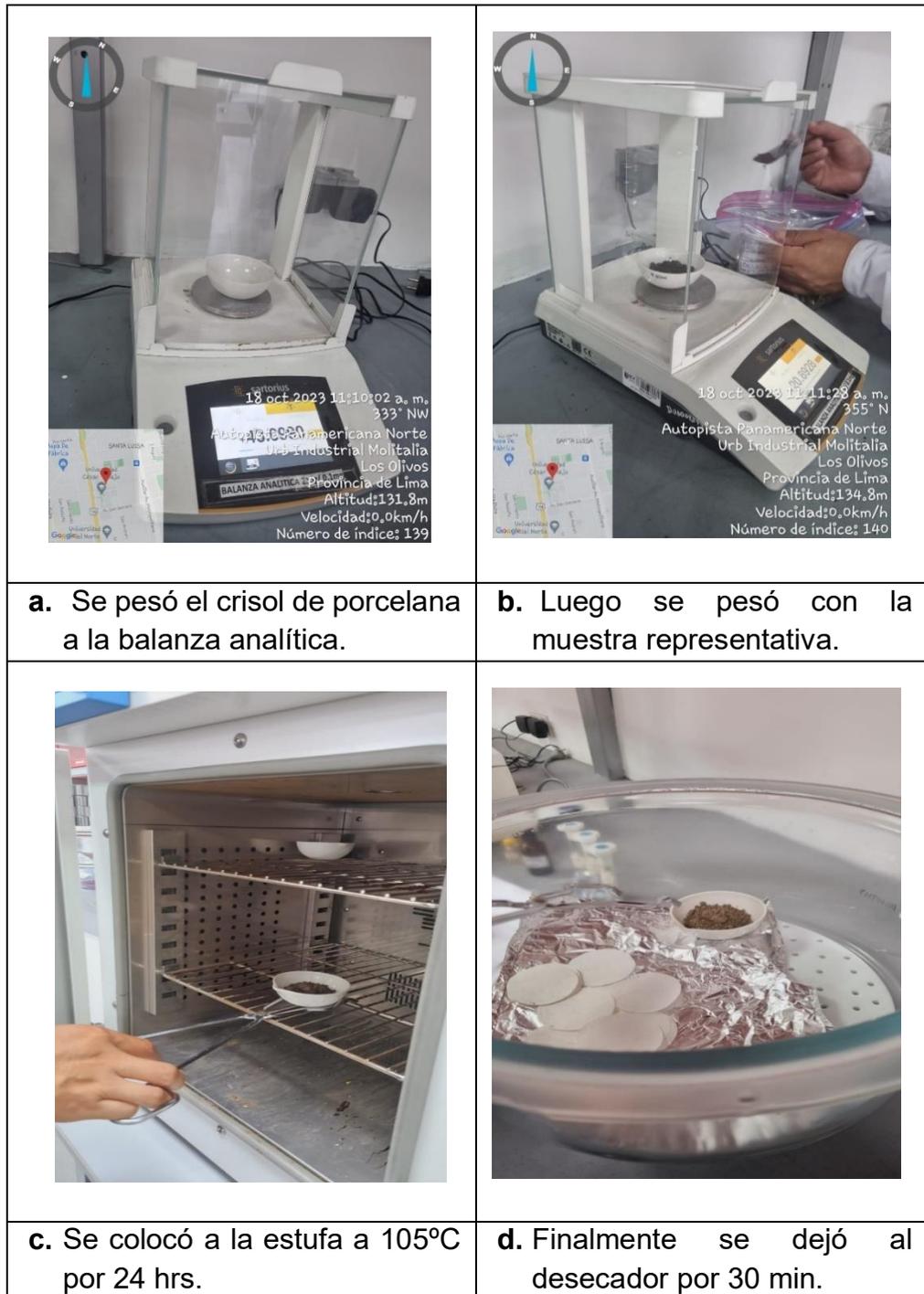


FIGURA 10. Determinación de la humedad en el suelo.

Cálculos

Para los cálculos, se utilizaron las siguientes expresiones algebraicas:

$$\text{Peso del suelo seco (gramos)} = W_3 - W_1 \quad (1)$$

$$\text{Peso del agua en (gramos)} = W_2 - W_3 \quad (2)$$

$$\text{Porcentaje de humedad (\%)} = \left(\frac{\text{peso de agua}}{\text{peso suelo seco}} \right) * 100 \quad (3)$$

$$*58.092g - 43.099g = 14.993g$$

$$**63.099g - 58.092g = 5.007g$$

$$H = \left(\frac{5.007g}{14.993g} \right) * 100$$

$$H = 0.333 * 100$$

$$H = 33.3\%$$

Descripción de la Materia Orgánica

Para hallar la materia orgánica se necesitó los siguientes materiales:

- ✓ Mufla
- ✓ Crisoles o capsula de porcelana
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Desecador

Procedimiento:

1. Se pesó el crisol de porcelana en la balanza analítica **(Figura 11)**.
2. Se secó la muestra de suelo a 105 °C por 24 horas en la estufa **(Figura 11)**.
3. Luego de retirar el crisol con el suelo seco, se llevó al desecador y se calcinó la muestra a 550 °C por 5 horas en la mufla. Finalizando, se enfrió en un desecador y se pesó en la balanza analítica **(Figura 11)**.

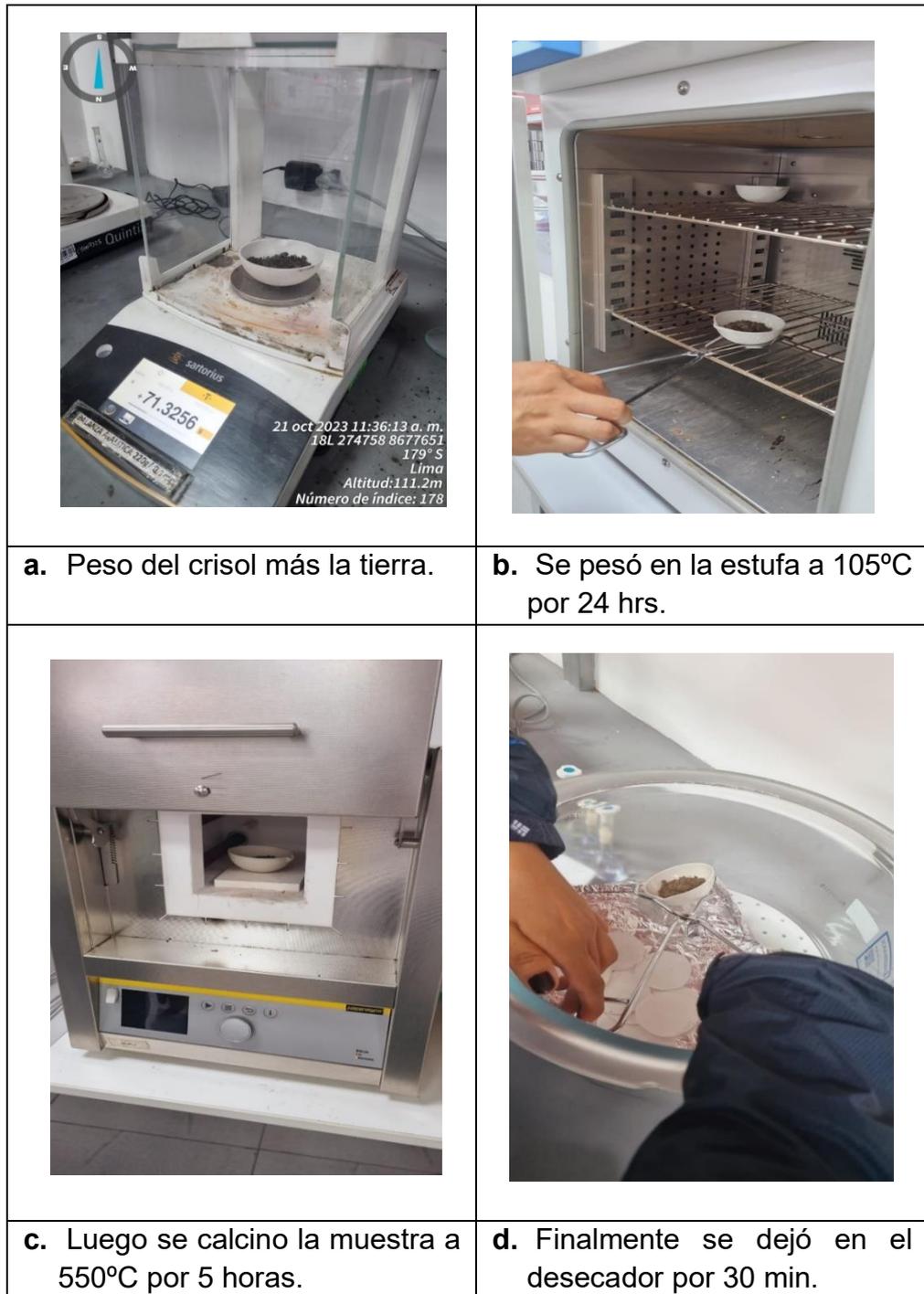


FIGURA 11. Determinación de la materia orgánica.

Cálculos:

1. Peso seco a 105°C por 24 horas (1)

2. Calcinción a 550 ° (2)

$$C = \frac{(\text{peso seco a } 105^{\circ}\text{C} - \text{peso a } 550^{\circ}\text{C})}{\text{peso seco a } 105^{\circ}\text{C}} * 100$$

Peso seco a 105°C = 64.617

Peso calcinación a 550°C = 63.405

$$C = \frac{64.617g - 63.405g}{64.617g} * 100$$

$$C = \frac{1.212g}{64.617g} * 100$$

$$C = 0.018 * 100$$

$$C = 1.8\%$$

Descripción de la densidad

Los materiales y equipos para hallar la densidad son:

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Estufa
- ✓ Desecador
- ✓ Parafina
- ✓ Fosforo
- ✓ Mechero de bunsen
- ✓ Hilo de nailon
- ✓ Probeta
- ✓ Crisol de porcelana

Procedimiento de la densidad Real:

1. Se pesó en la balanza analítica el crisol de porcelana, luego conjuntamente con el terrón de tierra y se colocó en la estufa a 105°C por 24 horas, se enfrió en un desecador y se pesó (A = peso seco).
2. Luego, se puso 150 ml de agua en una probeta y se sumergió el terrón de tierra en el agua, y se pesó el terrón de tierra, a la vez se apuntó el volumen despejado. (B = peso del volumen desplazado) (**Figura 12**).
3. Los valores encontrados se muestran en la **Tabla 5**.

Datos:

Peso seco A= 10.456

Peso de Volumen desplazado B= 5 ml



FIGURA 12. Determinación de la densidad real.

Cálculos:

$$\text{Densidad Real} = \frac{\text{peso seco (g)}}{\text{Volumen desplazado (ml)}}$$

$$\text{Densidad Real} = \frac{10.456 \text{ g}}{5 \text{ ml}}$$

$$\text{Densidad Real} = 2.091 \frac{\text{g}}{\text{ml}} \cong 2.901 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

Procedimiento de la densidad Aparente:

1. Se pesó en la balanza analítica el crisol de porcelana, luego se pesó de manera conjunta con un terrón de tierra, posterior a ello se puso en la estufa a 105°C por 24 horas, finalizando se enfrió en un desecador y se pesó (A = peso seco).

2. Luego, se hizo uso del mechero Bunsen en el cual se puso un pocillo metálico con parafina, y se dejó calentar para que esté completamente líquida (**Figura 13**).
3. Una vez la parafina este líquida, se ató el terrón de tierra con un pabilo para poder suspenderlo dentro de parafina derretida, permitiendo que la parafina cubra todo el agregado, luego se una vez más. Finalmente, se retiró y se permitió la solidificación de la parafina en el terrón (**Figura 13**).
4. Se pesó el terrón de suelo cubierto con parafina (B = peso del terrón + parafina) (**Figura 13**).
5. Luego se vertió agua en una probeta a 150 ml y se sumergió el terrón de tierra en el agua y se anotó el volumen despejado. (C = peso del volumen desplazado) (**Figura 13**).
6. Se retiró el agregado, se secó con papel toalla y se pesó. El peso debe ser igual a B.
7. Los valores encontrados se muestran en la **Tabla 5**.

 <p>21 oct 2023 10:21:54 a. m. 18L 274751 8677644 76°E Lima Altitud:111.6m Velocidad:0.0km/h Número de índice: 163</p>	 <p>21 oct 2023 10:26:49 a. m. 18L 274762 8677651 195°S Lima Altitud:115.2m Velocidad:0.0km/h Número de índice: 169</p>
<p>a. Se prendió el mechero de bunsen para derretir la parafina.</p>	<p>b. Se sumergió el terrón de tierra dentro de la parafina derretida.</p>

 <p>21 oct 2023 10:39:04 a. m. 18L 274762 8677519 13.7 SE Lima Altitud: 134.3m Velocidad: 0.0km/h Número de índice: 173</p>	 <p>21 oct 2023 10:42:44 a. m. 18L 274759 8677544 146° SE Lima Altitud: 134.3m Velocidad: 0.0km/h Número de índice: 173</p>
<p>c. Se pesó el terrón de tierra más la parafina.</p>	<p>d. Se sumergió el terrón de tierra en la probeta de agua y se calculó el volumen desplazado.</p>

FIGURA 13. Determinación de la densidad aparente.

Aplicación de la fórmula de la densidad aparente con el método de la parafina.

$$Da = \frac{PSS\ 105^{\circ}C}{Vd - \left| \frac{PSSP - PSS}{0,9} \right|} \quad (1)$$

Donde:

Da = Densidad aparente

Pss 105°C = peso del terrón del suelo seco

Vd = Volumen desplazado

PSSP = Peso del suelo + parafina

PSS = Peso del terrón del suelo sin parafina

0,9 = Densidad de la parafina

Cálculos:

1. Peso del terrón seco en estufa = 14.185
2. Peso del terrón con parafina = 17.643
3. Volumen desplazado en probeta = 10 ml

4. Densidad de la parafina = 0.9 g/cm³

a) Hallamos el peso de la parafina

$$W_{\text{parafina}} = 17.643 - 14.185$$

$$W_{\text{parafina}} = W_{\text{terron con parafina}} - \text{terron seco}$$

$$W_{\text{parafina}} = 3.458$$

b) Ahora hallamos el Vol. De la parafina

$$V_{\text{parafina}} = \frac{\text{peso}}{\text{densidad}}$$

$$V_{\text{parafina}} = \frac{3.458}{0.9 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}}$$

$$V_{\text{parafina}} = 3.842 \text{ cm}^3$$

c) Volumen del terrón

$$\text{Vol. del terron} = \text{Vol. total del terron} - \text{Vol. parafina}$$

$$\text{Vol. del terron} = 10\text{ml} - 3.842$$

$$\text{Vol. del terron} = 6.158\text{ml}$$

d) Densidad aparente

$$\text{Densidad aparente} = \frac{W_{\text{terron seco}}}{\text{Vol. del terron}}$$

$$\text{Densidad aparente} = \frac{14.185}{6.158}$$

$$\text{Densidad aparente} = 2.303$$

Aplicando formula:

$$Da = \frac{14.185}{10 - \left| \frac{17.643 - 14.185}{0.9} \right|}$$

$$Da = \frac{14.185}{10 - \left| \frac{3.458}{0.9} \right|}$$

$$Da = \frac{14.185}{10 - |3.842|}$$

$$Da = \frac{14.185}{6.158}$$

$Da = 2.303$

3.5.2. Procedimiento final

Se utilizaron los siguientes materiales y equipos para la siembra de la *Pseudomona Aeruginosa*.

Materiales

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Matraz Erlenmeyer
- ✓ Varilla
- ✓ Pipetas
- ✓ Rejilla
- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Trípode
- ✓ Probeta
- ✓ Piseta
- ✓ Placas Petri
- ✓ Pabilo
- ✓ Papel Kraft
- ✓ Espátula
- ✓ Gradilla
- ✓ Vasos precipitados
- ✓ Guantes
- ✓ Asa de siembra
- ✓ Algodón
- ✓ Mascarilla KN 95

Instrumentos y equipos

- ✓ Autoclave
- ✓ Estufa
- ✓ Incubadora
- ✓ Balanza
- ✓ Refrigeradora

Reactivos

- ✓ Alcohol
- ✓ Agua destilada
- ✓ Agar Cetrimida
- ✓ Solución salina
- ✓ Cepa de *Pseudoma aeruginosa*
- ✓ Detergente

3.5.3. Preparación de medio de cultivo de Agar cetrimida

1. Se pesó en la balanza analítica 45.3 g. de polvo de Agar C., luego se mide 1L de agua destilada en la probeta para verterlo en los vasos precipitados de 500 ml y disolverlos conjuntamente con el agar (**Figura 14**).

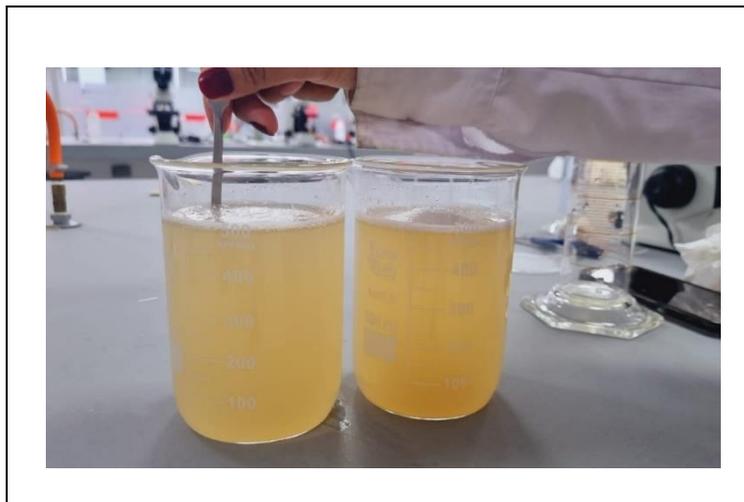


FIGURA 14. Preparación del Agar Cetrimida

2. Se vertió 4 matraces de 250 ml (**Figura 15**), tapando la boquilla con algodón y envuelto con papel kraft, para que se pueda colocar en la autoclave por 15 minutos a una T de 121 °C.

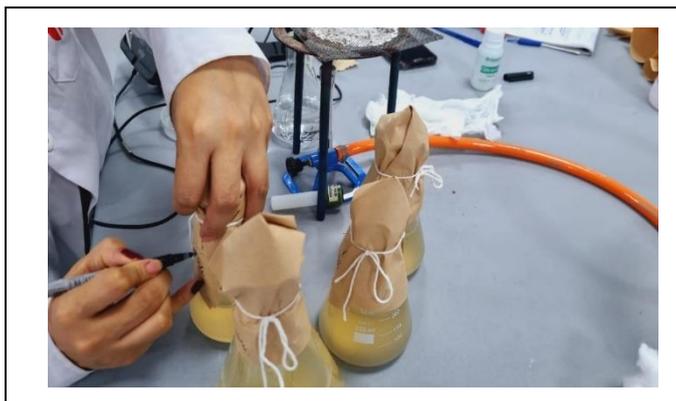


FIGURA 15. Se colocó en la autoclave por 15 minutos.

3.5.4. Resiembra de la Bacteria *Pseudomona Aeruginosa*

1. Tal como se aprecia en la **Figura 16**, se procedió a esterilizar el asa de siembra en el mechero al rojo vivo y a retirar una parte de bacteria del tubo de ensayo.



FIGURA 16. Se retiró la cepa del tubo de ensayo.

2. Con un hisopo se retiró muestra de la bacteria que está preparado en el tubo de ensayo, usando el método de estría en 3 campos, luego de ellos se sella y se lleva a incubar a 37 °C por 48 horas (**Figura 17**).

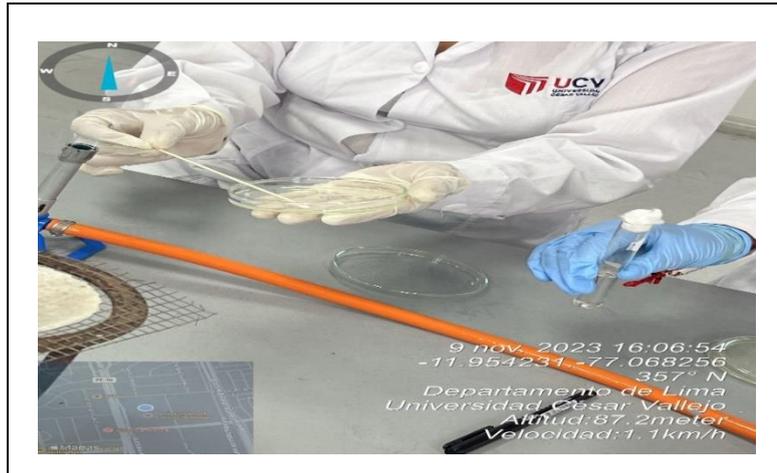


FIGURA 17. Se usó el método de estría en 3 campos.

3.5.5. Identificación de la Bacteria *Pseudomona Aeruginosa* mediante la Tinción Gram

1. Mediante el cultivo de la resiembra se observó presencia de la bacteria, lo cual para cerciorarse se realizó la tinción Gram. Se esteriliza el asa de siembra y se retiró la bacteria, se colocó sobre el portaobjeto que esta con agua esterilizada (**Figura 18**).

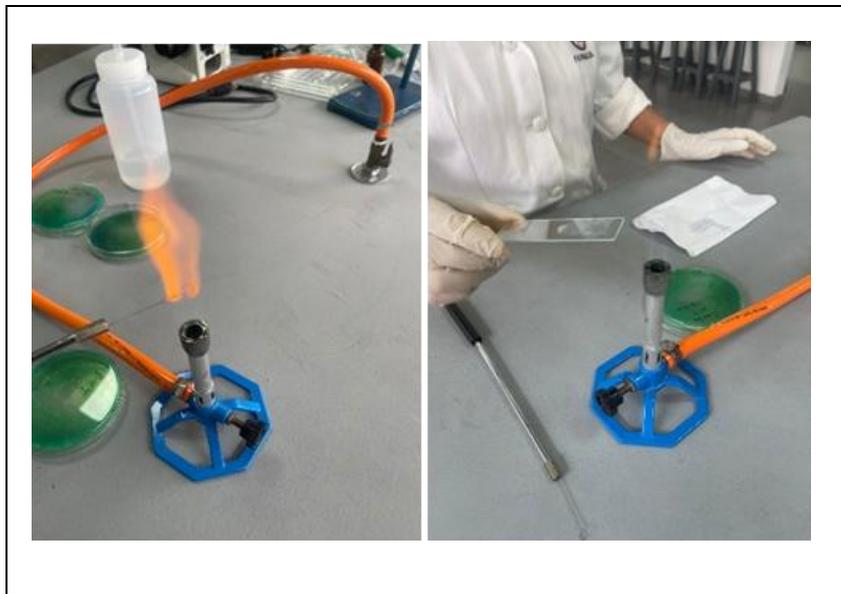
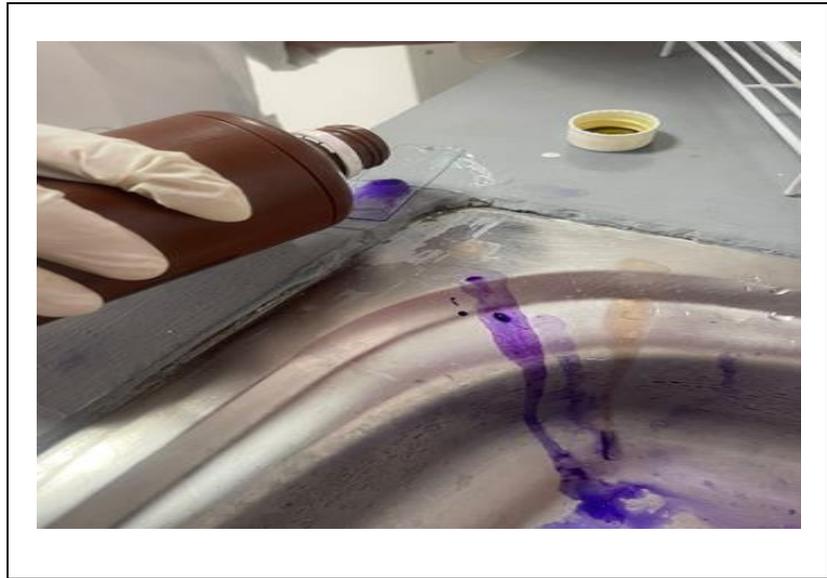


FIGURA 18. Retiro de la bacteria para ponerlo sobre el portaobjeto.

2. Se le coloco violeta de Genciana por un tiempo de 1 minuto y se deja caer el agua sobre este (**Figura 19**).

FIGURA 19. *Violeta de genciana y lavado sobre el portaobjeto.*



3. Se le vertió Lugol en el portaobjeto por 1 minuto y luego se dejó caer agua sobre este (**Figura 20**).

FIGURA 20. *Lugol sobre el portaobjeto para fijar el color por 1 minuto.*



4. Luego, se le colocó el colorante Gram y posterior la safranina por 1 minuto (**Figura 21**).



FIGURA 21. Safranina sobre el portaobjeto por 1 minuto.

5. Luego se llevó al microscopio y se identificó (**Figura 22**).

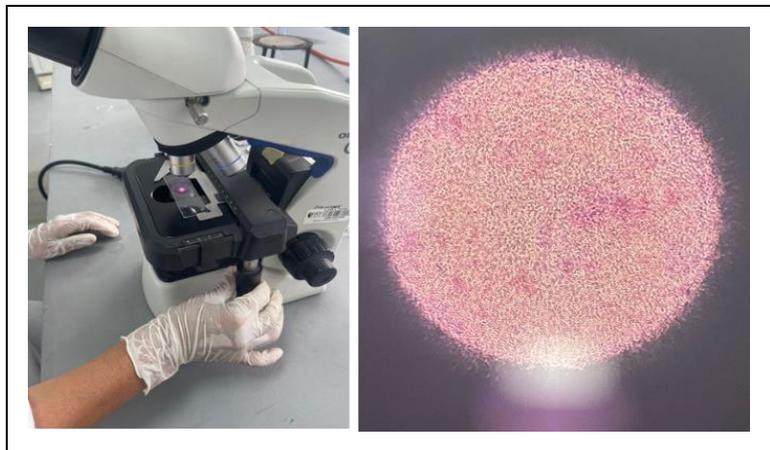


FIGURA 22. Identificación de la Bacteria P.A.

3.5.6. Cultivo de la tierra inicial – determinación de UFC óptimo para aplicar en el tratamiento.

1. Se esterilizo el asa de siembra al rojo vivo, el cual se utilizó para retirar la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* y diluirlo en solución salina en un vaso precipitado, se remueve lentamente (**Figura 23**).
2. Luego de ello se puso en 3 tubos de ensayo 9 ml de solución salina en cada uno, para que se vierta 1 ml de la dilución de la bacteria que se hizo antes. Siendo las diluciones de la bacteria 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} (**Figura 23**).
3. Luego se hizo el otro procedimiento, se pesa 10 g de suelo de la muestra inicial y se vierte en un vaso precipitado el

cual contiene solución salina, se agita y se dejó reposar **(Figura 23)**.

4. En 3 tubos de ensayo se vertió 9 ml de solución salina y se retiró 1 ml de la mezcla de suelo inicial realizando el procedimiento a tres concentraciones diferente; siendo 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} **(Figura 23)**.
5. Se retiró 0.5 ml de la mezcla de la tierra 10^{-1} y 0.5 ml de la dilución de la bacteria P.A. de 10^{-1} , y se vertió ambos en una placa Petri de dilución 10^{-1} y así respectivamente se realizó los otros dos procedimientos para lo que es 10^{-2} y 10^{-3} . La técnica de siembra utilizado fue por incorporación **(Figura 23)**.
6. Finalmente, se vertió el Agar Cetrimida en cada placa Petri y se dejó por 15 minutos para que se coagule. Se envuelve con papel Kraft y se ajustó con pabilo, poniendo a cultivo por 48 horas a 37°C **(Figura 23)**.
7. Pasado las 48 horas, se retiró las placas Petri, y se pone a contabilizar en el contabilizador de colonias las UFC **(Figura 23)**.

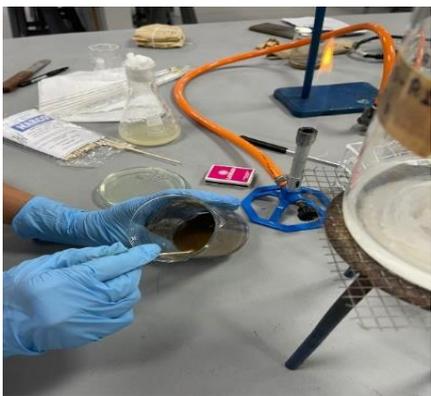
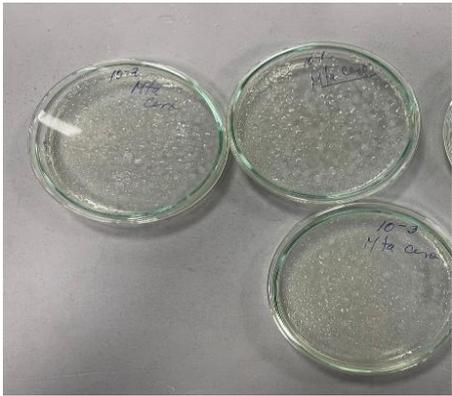
	
<p>a. Diluciones de suelo M0 10^{-1}, 10^{-2} y 10^{-3}.</p>	<p>b. Placas Petri a tres concentraciones de suelo muestra 0 + la dilución de la bacteria P.A. con la técnica de incorporación.</p>



FIGURA 23. Cultivo de la tierra inicial.

3.5.7. Inoculación de la Bacteria *Pseudomona Aeruginosa* a la tierra.

1. En una rejilla se puso 9 tubos de ensayo esterilizados (**Figura 24**) con tapones de algodón cada uno y codificado por tiempo de 5, 10 y 15 días.

FIGURA 24. Se colocó 9 tubos codificados



2. En cada tubo de ensayo se colocó solución salina, y luego se le agrega la dilución de la bacteria (**Figura 25**).



FIGURA 25. Se colocó solución salina.

3. Se vertió la dilución de la bacteria de 5, 10 y 15 días en los maceteros respectivamente (**Figura 26**), removiendo la tierra hasta su completa absorción con ayuda de la espátula.



FIGURA 26. Se vertió la dilución en los maceteros.

3.5.8. Cultivo y contabilización de las UFC/ml de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* a los 5, 10 y 15 días de tratamiento

A. Cultivo.

- A los 5, 10 y 15 días de tratamiento del suelo con *P. Aeruginosa*, se pesó 10 g en la balanza; posterior a ello se vertió en un vaso precipitado con 50 ml de solución salina y se removió. Se dejó reposar.
- Se prendió el mechero de bunsen y se pone el agar para que se vuelva líquido.
- Luego, se vertió en 3 tubos de ensayo 9ml de solución salina; luego con una pipeta se retiró 1 ml de la mezcla de suelo para verterlo en un tubo de ensayo y se da una dilución de 10^{-1} siendo D1, posterior del D1 se retiró 1 ml y se vertió en otro tubo de ensayo y se da una dilución de 10^{-2} siendo D2, posterior del D2 se retiró 1 ml y se vertió finalmente otro tubo de ensayo y se da una dilución de 10^{-3} siendo D3; todos se agitaron levemente (**Figura 27**).

- Luego, una vez que el Agar C. este líquido, se vertió en 3 placas Petri y se dejó coagular por 15 minutos (**Figura 27**).
- Una vez coagulado, con un hisopo se retiró de la C1 con la muestra y se realizó la técnica por agotamiento en tres campos y se tapa. Siendo la $C10^{-1}$. Se realizó lo mismo con la C2 y C3 siendo $C10^{-2}$ y $C10^{-3}$, respectivamente (**Figura 27**).
- Se envolvió con papel Kraft y amarró con pábilo, para cultivarlo por 48 horas a 37°C .

B. Contabilización.

- Pasado las 48 horas, se retiró las placas Petri, se observó el crecimiento de la bacteria.
- Luego de esto, en la máquina de contabilizador de colonias se colocó cada placa Petri y se empezó a contar.

	
<p>a. Mezcla de Tierra con tratamiento de las muestras de solución salina.</p>	<p>b. Procedimiento de la mezcla de suelo de 5 d. con solución salina a 3</p>

	<p>diferentes concentraciones.</p>
 <p>17 nov. 2023, 14:54:33 -11.954301, -77.068228 185° S Departamento de Lima Universidad César Vallejo Altitud: 86.7 meter Velocidad: 0.6 km/h</p>	 <p>17 nov. 2023, 14:46:53 -11.954301, -77.068228 337° NW Departamento de Lima Universidad César Vallejo Altitud: 87.0 meter Velocidad: 6.6 km/h</p>
<p>c. 3 tubos de ensayo a las concentraciones: $C10^{-1}$, $C10^{-2}$ y $C10^{-3}$</p>	<p>d. Agar Cetrimida en 3 placas petri</p>
 <p>17 nov. 2023, 14:56:03 -11.954301, -77.068228 185° S Departamento de Lima Universidad César Vallejo Altitud: 86.4 meter Velocidad: 0.4 km/h</p>	 <p>17 nov. 2023, 15:00:30 -11.954393, -77.068298 232° SW Departamento de Lima Universidad César Vallejo Altitud: 86.7 meter Velocidad: 3.6 km/h</p>
<p>e. Agar coagulado para la siembra de Suelo con tratamiento de la muestra.</p>	<p>f. Siembra de Suelo con la muestra de 5, 10 y 15 días de tratamiento a diferentes concentraciones, teniendo $C10^{-1}$, $C10^{-2}$ y $C10^{-3}$.</p>



FIGURA 27. Cultivo y contabilización de UFC.

3.5.9. Análisis fisicoquímicos después de los 5, 10 Y 15 días de tratamiento.

Descripción de color

1. Las 3 muestras de suelo se secaron en la estufa a 105°C por 24 horas, terminado ese tiempo se comparó el color de la muestra con el de la tabla estándar hasta obtener las tres propiedades de color de suelo: matiz, brillo e intensidad cromática (**Figura 28**).
2. Posteriormente, se humedeció la muestra de suelo en la placa de porcelana y se comparó, nuevamente con las tablas estándar, luego se realizó las comparaciones del suelo seco y húmedo para finalmente se realizó las comparaciones con las tablas de Munsell y se tomó lectura.



Comparativa de cada muestra con la tabla Munsell

FIGURA 28. *Determinación del color*

Descripción de pH, Temperatura y CE de las muestras.

1. Se colocó cada muestra de 10g en un vaso precipitado, se le adicióno 50 ml de agua destilada, se agito inmediatamente con la varilla 2 min, terminada la agitación se dejó reposar por 15 min (**Figura 29**).
2. Luego en 3 tubos de ensayo se colocó la suspensión de las muestras y se insertó los electrodos y finamente se tomaron las lecturas en el multiparámetro del pH, de la conductividad eléctrica y temperatura (**Figura 29**).



a. Se colocó cada muestra de 10g en un vaso precipitado,



b. En 3 tubos de ensayo se colocó la suspensión de

se le adiciono 50 ml de agua destilada.	las muestras respectivas.
	
c. Se insertó los electrodos.	d. Se tomó las lecturas.

FIGURA 29. Determinación de T° , pH y CE.

Descripción de la Humedad

1. Se pesó cada crisol de porcelana en la balanza analítica, es W_1
2. Se transfirió 10 g de suelo húmedo de cada muestra. El peso del crisol más la muestra de suelo húmedo es W_2 (**Figura 30**).
3. Se colocó el crisol de porcelana más muestra de suelo en la estufa a 105°C por 24 horas (**Figura 30**).
4. Se retiró la muestra de la estufa, se enfrió en el desecador durante 30 minutos. Se pesó en la balanza. El peso del crisol de porcelana más la muestra seca de suelo es W_3 .

	
<p>a. Muestras.</p>	<p>b. Muestras de suelo en la estufa a 105 °C por 24 horas.</p>
	
<p>c. Se enfrió en el desecador durante 30 minutos.</p>	<p>d. Crisol de porcelana más la muestra seca de suelo.</p>

FIGURA 30. Determinación de la Humedad

Descripción de la Materia Orgánica

1. Se pesó los 3 crisoles de porcelana en la balanza analítica (**Figura 31**).
2. Se secó las 3 muestras de suelo M1-5d, M2-5d y M3-5d a 105 °C por 24 horas en la estufa (**Figura 31**).
3. Se secó las 3 muestras de suelo a 105 °C por 24 horas en la estufa (**Figura 31**).

4. Luego se retiró los crisoles con el suelo seco, se llevó al desecador y se calcino las muestras a 550 °C por 5 horas en la mufla. Finalizando, se enfrió en un desecador y se pesó en la balanza analítica (**Figura 31**).

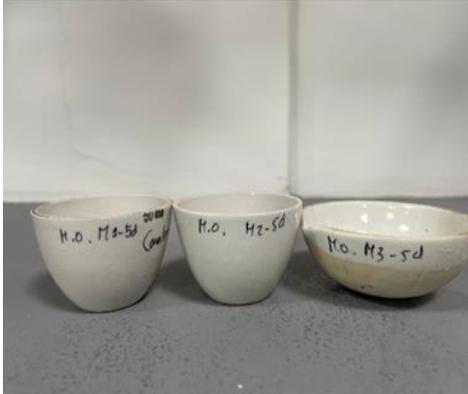
	
<p>a. Muestras</p>	<p>b. Muestras de suelo en la estufa a 105 °C por 24 horas.</p>
	
<p>c. Se enfrió en el desecador durante 30 minutos.</p>	<p>d. Se calcino las muestras a 550 °C por 5 horas en la mufla</p>

FIGURA 31. *Determinación de la Materia Orgánica.*

Descripción de la Densidad Real y Aparente

Densidad Real

1. Se pesó en la balanza analítica los crisoles de porcelana, luego conjuntamente con el terrón de tierra. Se colocaron en la estufa a 105°C por 24 horas, se enfrió en un desecador y se pesó (A = peso seco) (**Figura 32**).
2. Luego, se puso 5 ml de agua en una probeta y se sumergió cada terrón de tierra en el agua, y se pesó cada terrón de tierra, a la vez se apuntó el volumen despejado. (B = peso del volumen desplazado) (**Figura 32**).

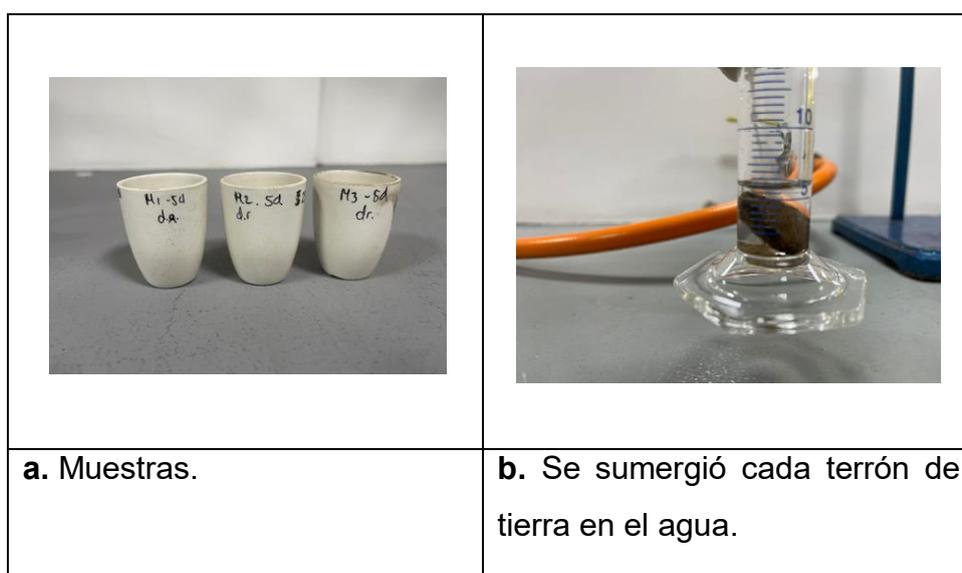


FIGURA 32. Determinación de la densidad Real.

Densidad Aparente

1. Se pesó en la balanza analítica cada crisol de porcelana, luego se pesó de manera conjunta con un terrón de tierra, posterior a ello se puso en la estufa a 105°C por 24 horas, finalizando se enfrió en un desecador y se pesó (A = peso seco) (**Figura 33**).
2. Luego, se hizo uso del mechero Bunsen en el cual se puso un pocillo metálico con parafina, y se dejó calentar para que esté completamente líquida.
3. Una vez la parafina este líquida, se ató cada terrón de tierra con un pabilo para poder suspenderlo dentro de parafina derretida, permitiendo que la parafina cubra todo el agregado, luego se una vez más. Finalmente, se retiró y se

permitió la solidificación de la parafina en el terrón (**Figura 33**).

4. Se pesó cada terrón de suelo cubierto con parafina ($B = \text{peso del terrón} + \text{parafina}$).
5. Luego se vertió agua en una probeta a 50 ml y se sumergió cada terrón de tierra en el agua y se anotó el volumen despejado. ($C = \text{peso del volumen desplazado}$).
6. Se retiró el agregado, se secó con papel toalla y se pesó. El peso debe ser igual a B.

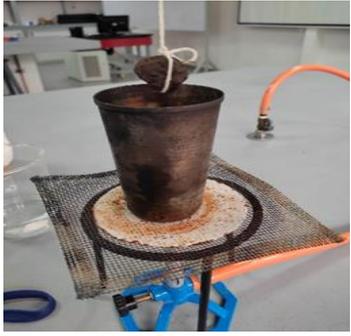
	
<p>a. Muestras.</p>	<p>b. Muestras de suelo en la estufa a 105 °C por 24 horas.</p>
	
<p>c. Se enfrió en el desecador durante 30 minutos.</p>	<p>d. Se suspendió cada terrón de cada muestra de suelo dentro de la parafina líquida.</p>

FIGURA 33. Determinación de la densidad aparente.

3.6. Método de análisis de datos

La estadística inferencial y la estadística descriptiva se realizaron utilizando los programas SPSS y Excel, respectivamente, a través de los cuales se generaron tablas y figuras, cuyas interpretaciones nos permitieron contestar cada uno de los objetivos planteados. El programa SPSS utilizará con la estadística inferencial para probar la homogeneidad de la varianza y la normalidad de las variables en estudio y poder hacer la contratación de las hipótesis.

3.7. Aspectos éticos

Esta investigación se realizó respetando el código de ética en investigación de la Universidad César Vallejo, RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO N° 0262-2020/UCV, señalando el art. 9°, que se brinda a la comunidad universitaria el acceso a un software que permite detectar el índice de similitud con otras fuentes de consulta; como lo es el Turnitin, siendo de esta manera los resultados datos originales y de alta confiabilidad. Además de cumplir con la guía de productos de investigación.

En relación a la autorización para la recopilación de las muestras de suelos, se contó con el permiso correspondiente, el cual se adjunta a la presente en el **Anexo 4**.

IV. RESULTADOS

4.1. **OB1:** Determinación necesaria de la contabilización de unidades formadoras de colonia por mililitro de la *Pseudomona Aeruginosa* para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en el suelo agrícola.

TABLA 3. Resultado de contabilización de UFC/ml en la inoculación de la bacteria al suelo.

<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	Tiempo y contabilización de inoculación de la bacteria al suelo		
	5 días	10 días	15 días
Dilución 10 ⁻¹	>300 UFC/ml	>300 UFC/ml	>300 UFC/ml
Dilución 10 ⁻²	>300 UFC/ml	>300 UFC/ml	>300 UFC/ml
Dilución 10 ⁻³	5 x 10 ⁴ UFC/ml	6.5 x 10 ⁴ UFC/ml	7.5 x 10 ⁴ UFC/ml

Interpretación:

En relación con el objetivo 1 de la determinación de las Unidades Formadoras de Colonia / ml de la *Pseudomona Aeruginosa* adecuada para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en los suelos agrícolas, se puede observar en la Tabla 3 que la UFC/ml adecuada para la reducción de Cd es en una dilución de 10⁻³ en un tiempo de 10 y 15 días siendo 6.5 x 10⁴ y 7.5 x 10⁴ UFC/ml reduciendo a un 96.86% y >80% respectivamente, para la reducción de Pb la UFC/ml adecuado es en los 15 días en una dilución de 10⁻³ con 7.5 x 10⁴ UFC/ml siendo el más óptimo debido a que presenta mayor reducción en este tiempo de un 27%.

En la **Figura 34** se observa la UFC/ml adecuada en los tiempos de 5, 10 y 15 días en la dilución más óptima.

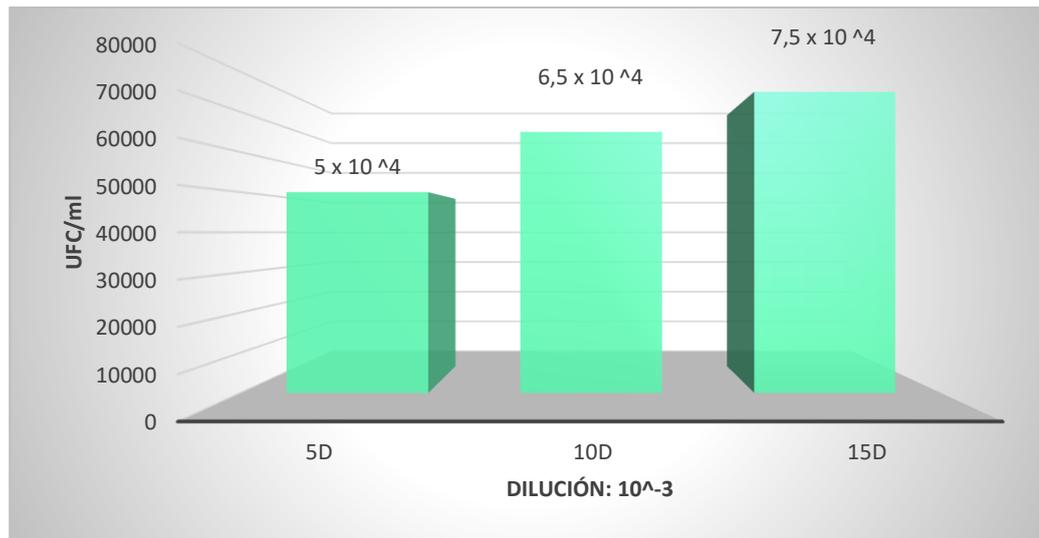


FIGURA 34. Tiempo y contabilización de dosis de la bacteria inoculada al suelo a dilución óptima

4.2. OB2: Determinación del tiempo óptimo de reducción de Cadmio y Plomo en el suelo agrícola con la aplicación de la *Pseudomona Aeruginosa*.

TABLA 4. Resultado de tiempo óptimo de reducción de Cd y Pb

TIEMPO DE TRATAMIENTO	MUESTRAS	Concentración de metales pesados	
		Pb (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)
0 días	M0	39.24	1.59
5 días	M1-T1	34.45	1.47
	M2-T1	32.64	1.32
	M3-T1	33.7	1.28
	PROMEDIO	33.60	1.36
10 días	M4-T2	36.88	0.05
	M5-T2	34.84	0.05
	M6-T2	32.12	0.05
	PROMEDIO	34.61	0.05
15 días	M7-T3	27.88	<0.33
	M8-T3	29.11	<0.33
	M9-T3	28.95	<0.33
	PROMEDIO	28.65	<0.33

Interpretación:

En relación con el **objetivo 2** podemos observar en la **Ta bla 4** que el tiempo óptimo para reducir las concentraciones de Plomo se da en los 15 días reduciendo a un 28.65 mg/Kg en comparativa con el análisis

inicial que fue de un 39.34 mg/Kg y en el Cadmio el tiempo óptimo de reducción fue a los 10 y 15 días reduciendo en un 0.05 y <0.33 mg/Kg respectivamente en comparativa con el análisis inicial que presenta una concentración de 1.59 mg/Kg.

En la **Figura 35** se observa el tiempo óptimo donde hubo mayor reducción de Pb dando como resultado los 15 días.

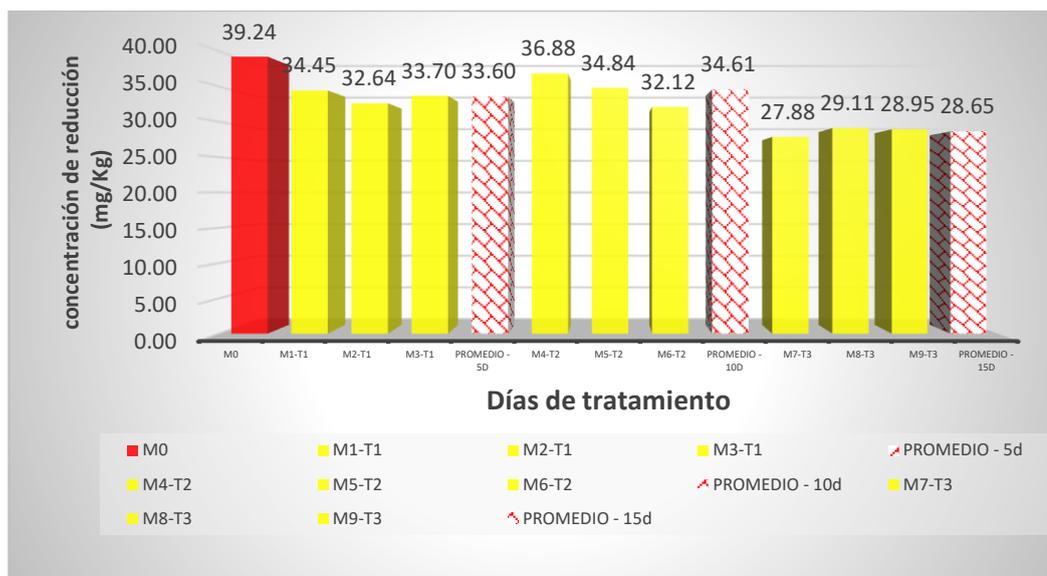


FIGURA 35. Resultados de tiempo óptimo de reducción del Pb.

En la **Figura 36** se observa el tiempo óptimo donde hubo mayor reducción de Cd dando como resultado a los 10 y 15 días.

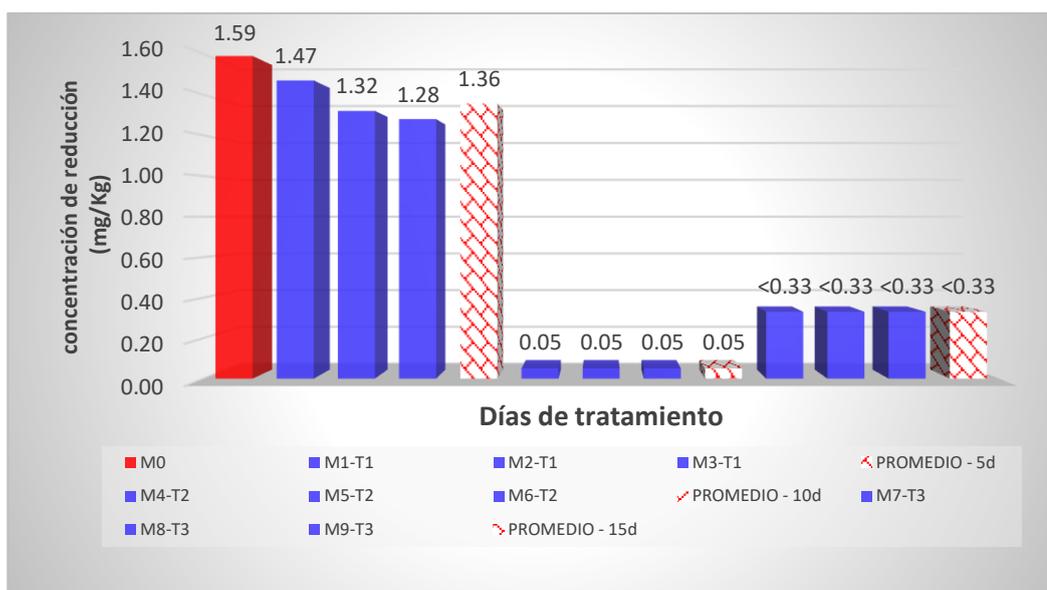


FIGURA 36. Resultados de tiempo óptimo de reducción del Cd.

- 4.3. **OB3:** Determinación de las características fisicoquímicas del suelo agrícola antes y después del tratamiento con la *Pseudomona Aeruginosa*.

TABLA 5. Resultado del parámetro físico del color antes y después del tratamiento

		Tabla de Munsell	
		Suelo seco	Suelo húmedo
MUESTRAS	Tiempo		
	M0	9 YR 5/2	9 YR 2.5/2
	M1-5d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M2-5d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M3-5d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M4-10d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M5-10d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M6-10d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M7-15d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
	M8-15d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2
M9-15d	10 YR 5/2	10 YR 2.5/2	

Interpretación:

En relación con el **objetivo 3** sobre la determinación de los análisis físico químicos antes y después del tratamiento de la *P. Aeruginosa*, se ha evaluado las características físicas entre las cuales tenemos el color, que se realizó en cada muestra por cada tiempo establecido desde el inicial hasta 5, 10 y 15 días; tal como se muestra en la **Tabla 5** donde se puede observar que se mantienen las condiciones colorimétricas del suelo, sin presentar ningún tipo de variación significativa tanto en suelo seco como en húmedo, debido a que las bacterias no alteran el color del suelo agrícola mostrado.

TABLA 6. Resultado de la determinación de T°, pH y CE antes y después del tratamiento

TIEMPO	Tratamientos	pH	T°	CE
0 días	M0	7.41	24.5 °C	517 µS/cm
	M1-T1	6.47	21.5 °C	597.8 µS/cm
5 días	M2-T1	6.86	19.1 °C	508.5 µS/cm
	M3-T1	6.85	18.9 °C	497.2 µS/cm

	PROMEDIO	6.72	19.8 °C	534.5 µS/cm
10 días	M4-T2	7.11	20.4 °C	521.3 µS/cm
	M5-T2	7.17	21.1 °C	425.5 µS/cm
	M6-T2	7.20	21.7 °C	556.9 µS/cm
	PROMEDIO	7.16	21.0 °C	501.23 µS/cm
15 días	M7-T3	6.15	27.2°C	633 µS/cm
	M8-T3	6.31	27 °C	604 µS/cm
	M9-T3	6.50	26.8°C	634 µS/cm
	PROMEDIO	6.32	27°C	623.66 µS/cm

Interpretación:

En relación con el **objetivo 3**, sobre la determinación de los análisis físico químicos antes y después del tratamiento con la *P. Aeruginosa*, se ha evaluado las características físicas entre las cuales tenemos la Temperatura (T°), como podemos observar en la **Tabla 6**, se analizó este parámetro a cada muestra por el tiempo de 5, 10 y 15 días dando 19.8°C; 21 °C y 27°C en promedio respectivamente; observando que en el tiempo de 15 días la T° ascendió a 27°C, estando dentro de lo normal para un suelo agrícola donde se realiza cultivos de cacao, ya que entre los 22° y los 30° C, este rango de temperatura permite al cacao tener un mejor desarrollo vegetativo y dar cosechas en grandes cantidades.

En la **Figura 37** se observan los análisis de la T° a los 5,10 y 15 días, observando que a los 15 días ha habido un aumento de 27°.

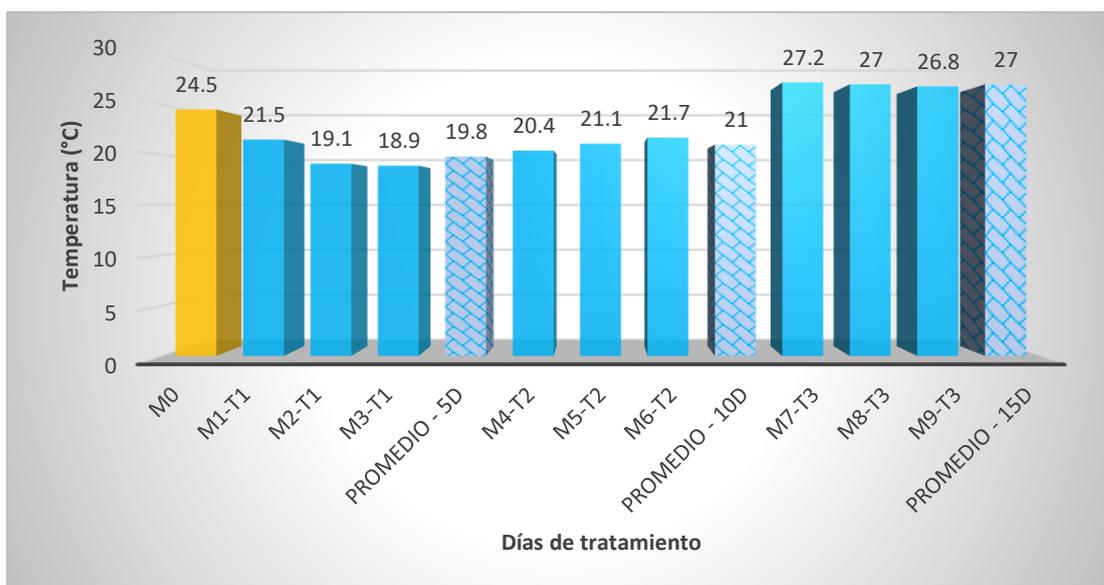


FIGURA 37. Análisis físico de la T° a los 5, 10 y 15 días

Se observa a la vez en la **Tabla 6** dos parámetros químicos, el pH y la CE; las cuales se analizó cada muestra por un periodo de 5, 10 y 15 días dando como resultado en pH 6.72; 7.16 y 6.32 respectivamente; en comparativa con el pH inicial que dio 7.41; se observa que se mantiene en un rango de 6.3 – 7.5; siendo así óptimo debido a que las bacterias tienen un mejor desarrollo entre estos intervalos de pH; a su vez se observa la CE inicial que fue de 517 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y fue variando en los tiempos del tratamiento siendo 534.5; 501. 2 y 623.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ respectivamente con el tiempo de 5, 10 y 15 días.

En la **Figura 38** se observan los análisis del pH realizado a la muestra inicial y a la vez a las muestras después del tratamiento en un tiempo de 5, 10 y 15 días; observando que los rangos oscilan entre 6.10 – 7.2 en pH aplicando la P.A. siendo moderadamente ácido a neutro, a comparación del análisis inicial que es 7.41 siendo levemente alcalino.

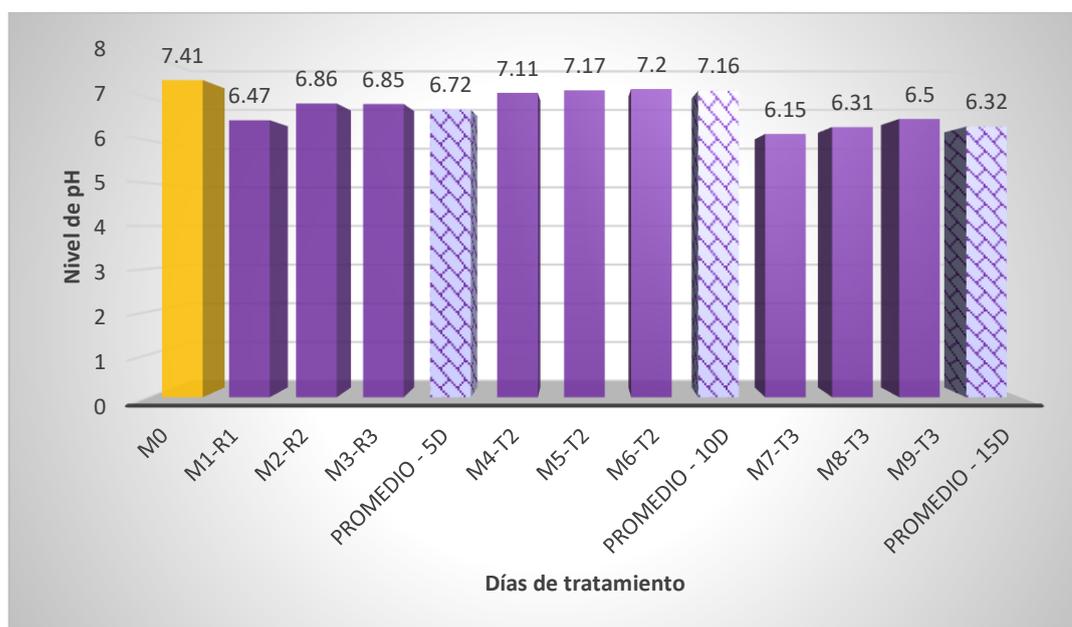


FIGURA 38. Análisis químico del pH a los 5, 10 y 15 días

En la **Figura 39** se observan los análisis de la CE realizado a la muestra inicial y a la vez a las muestras después del tratamiento en un tiempo de 5, 10 y 15 días; estando dentro del rango óptimo (1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$) para lo que es suelo para cultivo en el rango general de 500 a 640 $\mu\text{S}/\text{cm}$.



FIGURA 39. Análisis químico de la CE a los 5, 10 y 15 días

TABLA 7. Resultados de la determinación de la Humedad antes y después del tratamiento

TIEMPO	Tratamientos	Humedad
0 días	M0	33.3 %
5 días	M1-T1	4.44%
	M2-T1	6.38%
	M3-T1	5.26%
	PROMEDIO	5.36%
10 días	M4-T2	6.15%
	M5-T2	9.84%
	M6-T2	5.26%
	PROMEDIO	7.08%
15 días	M7-T3	6.80 %
	M8-T3	9.89 %
	M9-T3	9.28 %
	PROMEDIO	8.65 %

Interpretación:

En relación con el **objetivo 3** sobre la determinación de los análisis físico químicos antes y después del tratamiento de la *P. Aeruginosa*, se ha evaluado las características físicas entre las cuales tenemos la Humedad, como podemos observar en la **Tabla 7** en los tiempos de 5, 10 y 15 días se observan los resultados de 5.36; 7.08 y 8.65 % respectivamente, en comparativa con la muestra inicial que fue de 33.3%; se puede observar un gran cambio con el análisis inicial, pero a su vez este va ascendiendo en los promedios de los demás días. El resultado inicial es debido a las constantes precipitaciones que presentó el suelo de la Selva, y la disminución se debe a que a las muestras no se le proporcionaron o no hubo reposición hídrica en el tratamiento.

Como se observa en la **Figura 40**, el mayor % de humedad es en el suelo inicial con un 33.3%, en el tratamiento con la P.A. a los 5,10 y 15 días presenta bajo % de humedad, ya que no se le adiciono agua.

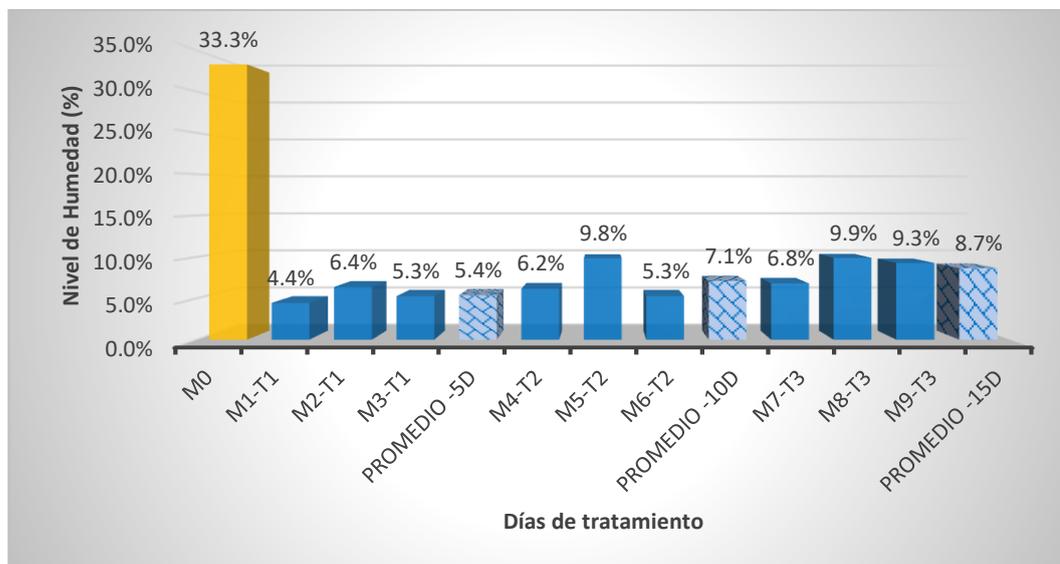


FIGURA 40. Análisis físico de la humedad a los 5,10 y 15 días.

TABLA 8. Resultado de la determinación de la Materia Orgánica antes y después del tratamiento

TIEMPO	Tratamientos	Materia Orgánica
0 días	M0	1.80 %
5 días	M1-T1	1.19%

	M2-T1	1.21%
	M3-T1	0.99%
	PROMEDIO	1.13%
10 días	M4-T2	1.28%
	M5-T2	1.22%
	M6-T2	1.25%
	PROMEDIO	1.25%
15 días	M7-T3	1.38 %
	M8-T3	1.36 %
	M9-T3	1.43 %
	PROMEDIO	1.39 %

Interpretación:

En relación con el **objetivo 3** sobre la determinación de los análisis físico químicos antes y después del tratamiento de la *P. Aeruginosa*, se ha evaluado las características químicas entre las cuales tenemos la Materia Orgánica, como podemos observar en la **Tabla 8** en los tiempos de 5, 10 y 15 días se observan los resultados en promedios de 1.13;1.25 y 1.39 % respectivamente, a comparación con la M0 que fue de 1,80%; se puede decir que ha ido disminuyendo, debido a que en el tratamiento no se le proporciono ningún aditivo nutricional y/o compost más que solo la bacteria *P. Aeruginosa*.

En la **Figura 41** se observa un mayor % de M.O. en el suelo inicial, debido a que no se le adiciono ningún nutriente al tratamiento del suelo, por ello en el tiempo de 5, 10 y 15 días se observa que ha habido una disminución, pero ha ido ascendiendo de manera lenta conforme ha avanzado el tiempo.



FIGURA 41. Análisis químico de la Materia Orgánica a los 5,10 y 15 días

TABLA 9. Resultado de la determinación de la densidad real y aparente antes y después del tratamiento

TIEMPO	Tratamientos	Densidad	
		Real	Aparente
0 días	M0	2.90 g/cm ³	2.30 g/cm ³
5 días	M1-T1	0.013 g/cm ³	1.80 g/cm ³
	M2-T1	0.035 g/cm ³	0.72 g/cm ³
	M3-T1	0.18 g/cm ³	1.03 g/cm ³
	PROMEDIO	0.076 g/cm³	1.18 g/cm³
10 días	M4-T2	1.25 g/cm ³	1.41 g/cm ³
	M5-T2	1.55 g/cm ³	1.35 g/cm ³
	M6-T2	1.11 g/cm ³	1.01 g/cm ³
	PROMEDIO	1.30 g/cm³	1.25 g/cm³
15 días	M7-T3	2.01 g/cm ³	1.56 g/cm ³
	M8-T3	2.16 g/cm ³	1.17 g/cm ³
	M9-T3	1.88 g/cm ³	3.34 g/cm ³
	PROMEDIO	2.01 g/cm³	2.02 g/cm³

Interpretación:

En relación con el **objetivo 3** sobre la determinación de los análisis físico químicos antes y después del tratamiento de la *P. Aeruginosa*, se ha evaluado las características físicas entre las cuales tenemos la Densidad real y aparente, como podemos observar en la **Tabla 9** en los tiempos de 5, 10 y 15 días se observan los resultados en promedios de 0.076; 1.30 y 2.01 g/cm³ respectivamente respecto a la densidad real y acorde al análisis inicial que fue de 2.90 g/cm³; se observa primero una disminución y luego fue ascendiendo; en cuanto a la densidad aparente presenta promedios de 1.18; 1.25 y 2.02 g/cm³ respectivamente al tiempo de tratamiento, observando en comparativa con la M0 un resultado de 2.30 g/cm³; se observa también una disminución al comienzo y luego que ha ido en aumento; manteniéndose en un rango de 1.18 – 2.3 g/cm³ ; siendo 1.8 g/cm³ óptimos para siembra y para suelos franco arenoso, 1.5 g/cm³.

En la **Figura 42** se observa la D.R., se observa una disminución en comparación con la M0, pero este va ascendiendo conforme pasan los días con el tratamiento de la *P.A.* siendo a los 15 días 2.01 g/cm³.

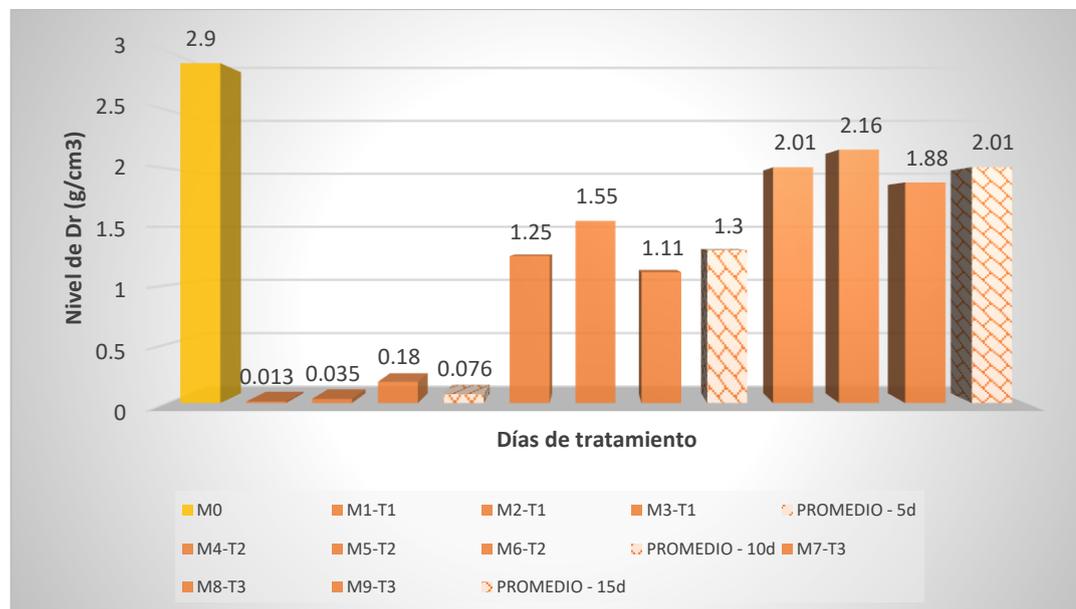


FIGURA 42. Análisis de la Densidad real a los 5, 10 y 15 días de tratamiento.

En la **Figura 43** se observa la Densidad aparente con un análisis inicial de 2.9 g/cm³; que ha ido bajando en el tratamiento de los primero 5d. y luego ha ido ascendiendo llegando a los 15 d. a 2.01 g/cm³.

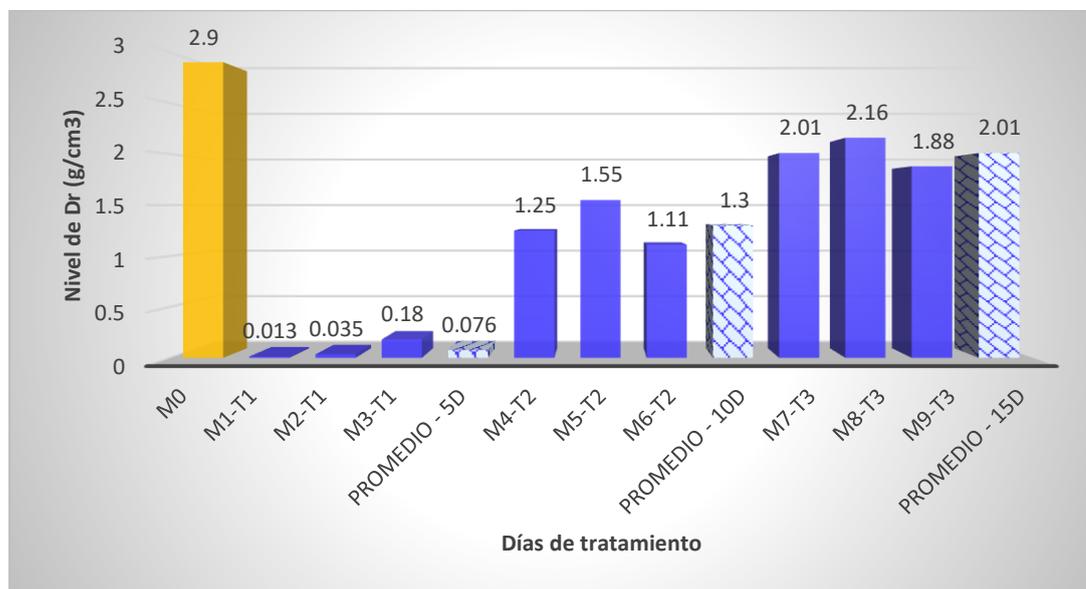


FIGURA 43. Análisis físico de la densidad aparente a los 5, 10 y 15 días

4.4. OB4: Determinación el porcentaje de reducción de Cadmio y Plomo mediante la *Pseudomona Aeruginosa* en los suelos agrícolas.

TABLA 10. Resultado de la determinación de porcentaje de reducción de Cd y Pb

TIEMPO DE TRATAMIENTO	% DE REDUCCIÓN		
	MUESTRAS	Pb (%)	Cd (%)
0 días	M0	0.00	0,00
5 días	M1-T1	12.21	7.55
	M2-T1	16.82	16.98
	M3-T1	14.12	19.50
	PROMEDIO	14.38	14.68
10 días	M4-T2	6.01	96.86
	M5-T2	11.21	96.86
	M6-T2	18.14	96.86
	PROMEDIO	11.79	96.86
15 días	M7-T3	28.95	>80
	M8-T3	25.82	>80

M9-T3	26.22	>80
PROMEDIO	27.00	>80

Interpretación:

En relación con el **objetivo 4** sobre la determinación del porcentaje de reducción óptimo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) mediante la *Pseudomona Aeruginosa*, se ha evaluado las características químicas entre las cuales tenemos la Concentración de Cd y Pb, como podemos observar en la **Tabla 11** el resultado de la concentración inicial de Cd fue de 1.59 mg/Kg y de Pb fue 39.24 mg/Kg; al tiempo de tratamiento de 5, 10 y 15 días se puede observar que el más óptimo en la reducción de Cd fue en el tiempo de 10 y 15 días, como se observa en la **Tabla 10** dando un % de reducción del 96.86% y más del 80% respectivamente; en cuanto al Pb se puede observar que en el tiempo de 15 días hay mayor % de reducción en un 27%, esto es debido a que la bacteria *P. Aeruginosa* realizó el tratamiento de reducción con éxito para ambos metales pesados.

En la **Figura 44** se observa que la *P. Aeruginosa* pudo reducir el Pb hasta un 27% en el suelo agrícola.



FIGURA 44. Porcentaje de reducción del plomo (Pb)

En cuanto la **Figura 45**, se observa que la *P. Aeruginosa* logro reducir más del 80% de Concentración de Cd en el suelo agrícola.

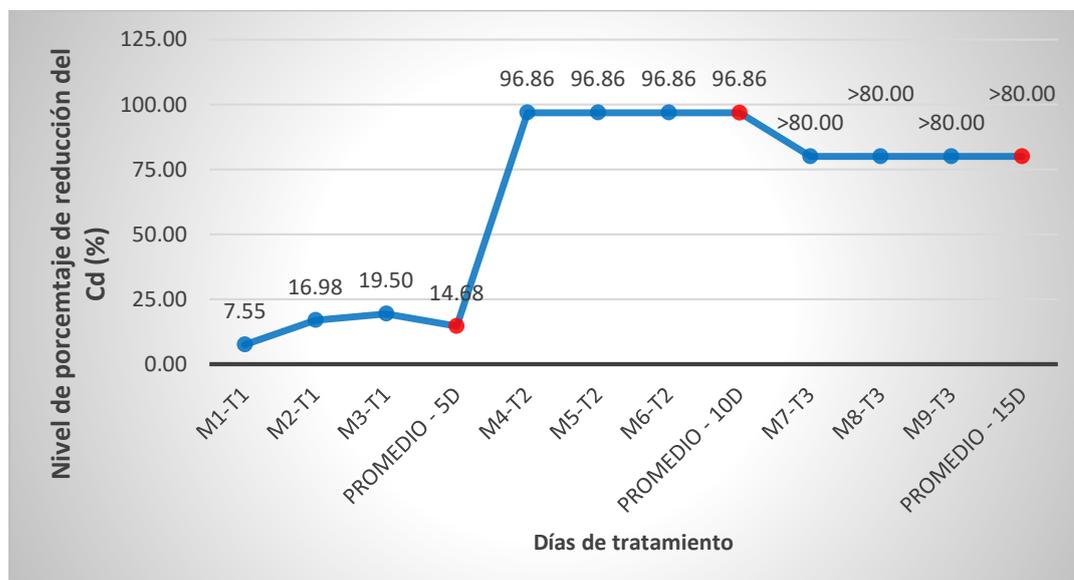


FIGURA 45. Porcentaje de reducción del cadmio (Cd)

- 4.5. **OBG:** Evaluar la reducción de Cadmio y Plomo con la *Pseudomona Aeruginosa* en el suelo agrícola.

TABLA 11. Resultado de la determinación de reducción de Cd y Pb después del tratamiento

TIEMPO DE TRATAMIENTO	MUESTRAS	CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS	
		Pb (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)
0 días	M0	39.24	1.59
5 días	M1-T1	34.45	1.47
	M2-T1	32.64	1.32
	M3-T1	33.7	1.28
	PROMEDIO	33.60	1.36
10 días	M4-T2	36.88	0.05
	M5-T2	34.84	0.05
	M6-T2	32.12	0.05
	PROMEDIO	34.61	0.05
15 días	M7-T3	27.88	<0.33
	M8-T3	29.11	<0.33
	M9-T3	28.95	<0.33

PROMEDIO

28.65

<0.33

Interpretación:

En relación con el **objetivo general** sobre la evaluación de la reducción de Cd y Pb con la *P.A.* podemos observar en la **Tabla 11** que la concentración de Plomo y Cadmio en las muestras iniciales fueron de 39.24 mg/Kg y 1.59 mg/Kg respectivamente, y después del tratamiento con la aplicación de la *Pseudomona Aeruginosa*, la concentración del Pb a los 5, 10 y 15 días redujeron a un 33.60 mg/Kg, 34.61 mg/Kg y 28.65 mg/Kg respectivamente; en cuanto al Cd a los 5, 10 y 15 días se observa una reducción de 1.36 mg/Kg, 0.05 mg/Kg y <0.33 mg/Kg a comparación de la concentración inicial que fue de 1.59 mg/Kg. Por lo tanto, indicamos que la *P. Aeruginosa* sí ha logrado reducir las concentraciones de Cd y Pb del suelo agrícola.

En la **Figura 46** podemos visualizar que la *P. Aeruginosa* sí logra reducir el Cd del suelo agrícola.

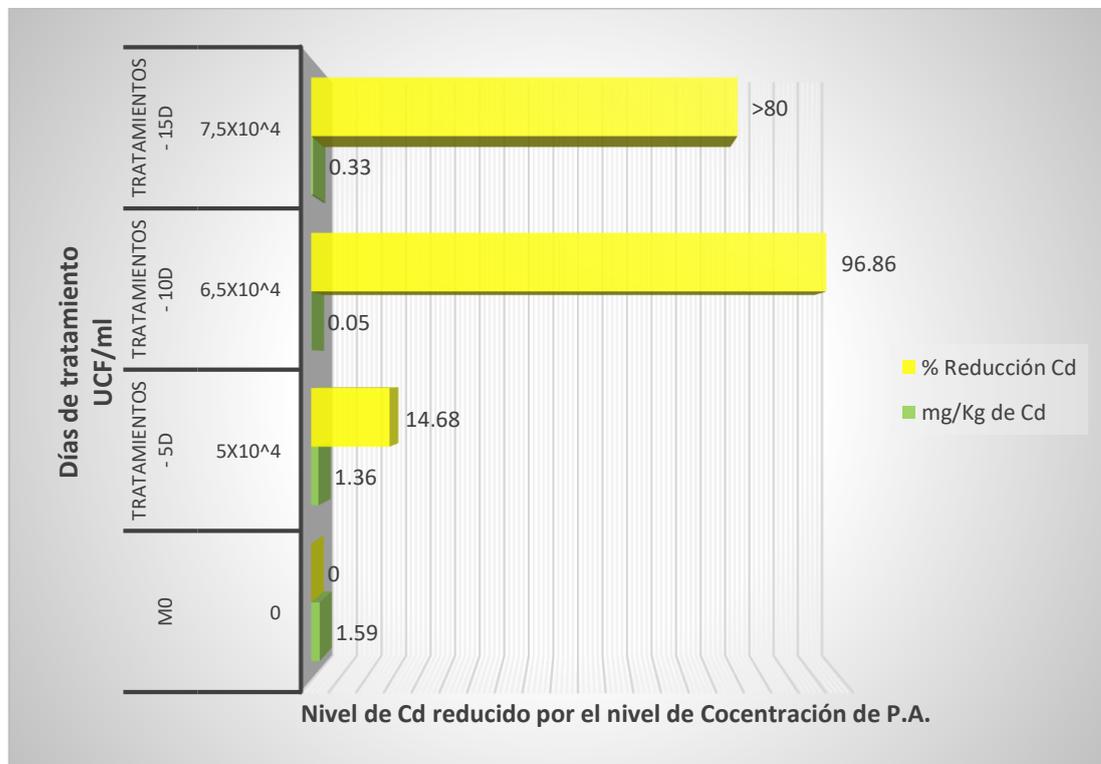


FIGURA 46. Reducción del Cd por la *P. Aeruginosa*

En la **Figura 47** podemos visualizar que la *P. Aeruginosa* sí logra reducir el Pb del suelo agrícola.

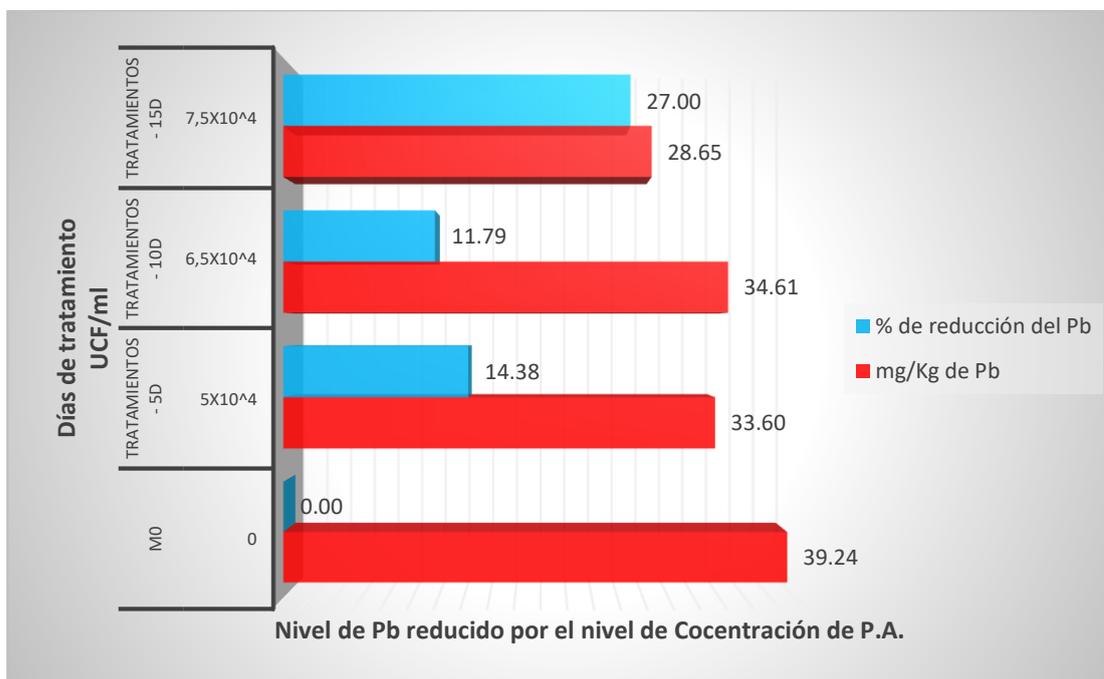


FIGURA 47. Reducción del Pb por la *P. Aeruginosa*

4.6. Prueba de Hipótesis

Para la verificación de la hipótesis del presente estudio, se realizó mediante un análisis de la prueba de normalidad y ANOVA.

Resultados de Características químicas

a. Resultados de Características pH

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto al pH como se observa en la **Tabla 12**, con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

Se planteó las hipótesis nula y alterna:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 12. Prueba de normalidad del pH

Pruebas de normalidad							
	TIEMPOS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
pH	0 DIAS	.385	3	.	.750	3	<.001
	5 DIAS	.377	3	.	.769	3	.043
	10 DIAS	.253	3	.	.964	3	.637
	15 DIAS	.189	3	.	.998	3	.906

a. Corrección de significación de Lilliefors

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En base a ellos, y a los valores obtenidos en la **Tabla 12**, donde se tiene que el valor de significación es mayor a 0,050; se acepta la Hx indicando que los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 13** se realizó el ANOVA del pH **La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:**

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 13. Prueba ANOVA del pH

ANOVA
pH

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	410534.180	3	136844.727	3.038	.093
Dentro de grupos	360404.411	8	45050.551		
Total	770938.591	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 13**, apreciamos que el valor de significación es 0,93 siendo mayor a 0,05, por lo cual se acepta la Hx donde el uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

b. Resultados de Características CE

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la CE como se observa en la **Tabla 14**, con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna planteada son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 14. Prueba de normalidad de la CE

Pruebas de normalidad							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	TIEMPOS	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
		o			o		

CONDUCTIVIDAD ELECTRICA	0 DIAS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	5 DIAS	.348	3	.	.833	3	.196
	10 DIAS	.283	3	.	.935	3	.506
	15 DIAS	.375	3	.	.775	3	.056
a. Corrección de significación de Lilliefors							

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 14**, se muestran los valores de significación El cual es mayor al p valor de 0,05, por lo cual los datos analizados de ajustan a una distribución normal, esto nos lleva a plantear los análisis de ANOVA, correspondiente a una estadística paramétrica.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 15** se realizó el ANOVA de la CE.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características químicas de suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 15. Prueba de ANOVA de CE

ANOVA					
CONDUCTIVIDAD ELECTRICA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.

Entre grupos	63822606.917	3	21274202.306	111.111	<.001
Dentro de grupos	1531747.333	8	191468.417		
Total	65354354.250	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 15**, se muestra que el valor de Significancia es mayor al p valor de 0,05, por lo tanto, podemos indicar que se acepta la Hx que nos indica que el uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

c. Resultado de característica de la Materia Orgánica

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Materia Orgánica como se observa en la **Tabla 16** con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 16. Pruebas de normalidad de la Materia orgánica

Pruebas de normalidad							
	TIEMPO	Kolmogorov-Smirnov^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístic	gl	Sig.	Estadístic	gl	Sig.
	S	o			o		

MATERIA ORGANICA	0 DIAS	.379	3	.	.764	3	.031
	5 DIAS	.356	3	.	.818	3	.157
	10 DIAS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	15 DIAS	.276	3	.	.942	3	.537
a. Corrección de significación de Lilliefors							

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 16**, los valores determinados del Significancia son mayores a 0,05 por lo tanto, aceptamos la Hx, el cual nos indica que los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 17** se realizó el ANOVA de la Materia orgánica.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 17. Prueba ANOVA de la Materia orgánica

ANOVA					
MATERIA ORGÁNICA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	32611.062	3	10870.354	168.504	<.001
Dentro de grupos	516.087	8	64.511		
Total	33127.149	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 17**, se muestra los siguientes valores de significancia es menor de **0,05** entonces aceptamos la **Hy**: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características químicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Resultados de las características físicas del suelo

a. Resultado de Características de la temperatura.

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Temperatura como se observa en la **Tabla 18** con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Ho: Los datos proceden de una distribución normal

H1: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 18. Prueba de normalidad de la Temperatura

Pruebas de normalidad							
	TIEMPO S	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
TEMPERAT URA	0 DIAS	.385	3	.	.750	3	<.001
	5 DIAS	.361	3	.	.807	3	.132
	10 DIAS	.187	3	.	.998	3	.915
	15DIAS	.380	3	.	.762	3	.127
a. Corrección de significación de Lilliefors							

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy.

En la **Tabla 18**, se muestran los valores de significancia que son mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx** Los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 19** se realizó el ANOVA de la Temperatura.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 19. Prueba ANOVA de la Temperatura

ANOVA					
TEMPERATURA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	23706.389	3	7902.130	.876	.493
Dentro de grupos	72188.020	8	9023.502		
Total	95894.409	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 19**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces, aceptamos la **Hx** El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro

las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

b. Resultado de las características de la Humedad

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Humedad como se observa en la **Tabla 20**, con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 20. Prueba de normalidad de la Humedad

Pruebas de normalidad							
	TIEMPOS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HUMEDAD	0 DIAS	.384	3	.	.753	3	.006
	5 DIAS	.208	3	.	.992	3	.830
	10 DIAS	.316	3	.	.889	3	.352
	15 DIAS	.315	3	.	.891	3	.358
a. Corrección de significación de Lilliefors							

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. ≤ 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. > 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 20**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx** Los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 21** se realizó el ANOVA de la Humedad.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 21. Prueba ANOVA de la Humedad

ANOVA					
HUMEDAD					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	894585.229	3	298195.076	9.528	.005
Dentro de grupos	250385.980	8	31298.247		
Total	1144971.209	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **tabla 21**, se muestra los valores de significancia menor de **0,05** entonces aceptamos la **Hy:** El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

c. Resultado de las Características de la Densidad real.

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Densidad Real como se observa en la **Tabla 22** con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 22. Prueba de normalidad de la densidad real

Pruebas de normalidad							
	TIEMPOS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DENSIDAD REAL	0 DIAS	.385	3	.	.750	3	<.001
	5 DIAS	.302	3	.	.910	3	.417
	10 DIAS	.260	3	.	.958	3	.605
	15 DIAS	.186	3	.	.998	3	.921
a. Corrección de significación de Lilliefors							

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 22**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx**, Los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 23** se realizó el ANOVA de la Densidad Real.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 23. Prueba ANOVA de la densidad real

ANOVA					
DENSIDAD REAL					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	49950.313	3	16650.104	2.353	.148
Dentro de grupos	56612.618	8	7076.577		
Total	106562.931	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 23**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx**: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no mejoro las características físicas del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Resultado de plomo y cadmio del suelo

a. Resultado de las Características de Plomo

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Concentración de Pb como se observa en la **Tabla 24**, con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 24. Prueba de normalidad del Pb.

Pruebas de normalidad							
	TIEMPO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PLOMO	0 DIAS	.351	3	.	.828	3	.183
	5 DIAS	.212	3	.	.990	3	.812
	10 DIAS	.204	3	.	.993	3	.843
	15 DIAS	.342	3	.	.846	3	.229

a. Corrección de significación de Lilliefors

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 24**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx** Los datos proceden de una distribución normal.

Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 25** se realizó el ANOVA de la concentración de Pb.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 25. Prueba ANOVA del Pb

ANOVA					
PLOMO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.

Entre grupos	178.896	3	59.632	33.353	<.001
Dentro de grupos	14.303	8	1.788		
Total	193.199	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **tabla 25**, se muestra los valores de significancia menor de **0,05** entonces aceptamos la **Hy** El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

b. Resultado de las Características del Cadmio

Se ha realizado la prueba de normalidad respecto a la Concentración de Cd como se observa en la **Tabla 26**, con la finalidad de demostrar según el análisis de datos, qué tipo de distribución presenta según el parámetro analizado, dado el tipo de muestras que son menor a 30, en nuestra investigación se ha usado shapiro wilk, luego nos fijamos en la significación, si esta es mayor de 0.05 podemos decir que nuestros datos son paramétricos.

La hipótesis nula y alterna son:

Hx: Los datos proceden de una distribución normal

Hy: Los datos no proceden de una distribución normal

TABLA 26. Prueba de normalidad del Cd

Pruebas de normalidad							
	TIEMPOS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CADMIO	0 DIAS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	5 DIAS	.310	3	.	.963	3	.384

	10 DIAS	.234	3	.	.548	3	.059
	15 DIAS	.647	3	.	.354	3	.558
a. Corrección de significación de Lilliefors							

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la Hx, se acepta la Hy.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la Hx, se rechaza la Hy

En la **Tabla 26**, se muestra los valores de significancia mayor de **0,05** entonces aceptamos la **Hx** Los datos proceden de una distribución normal. Con respecto al uso del ANOVA, este se usa cuando se tiene más de 3 tratamientos, en nuestra investigación se tienen 3 tratamiento en 3 tiempos de 5, 10 y 15; como se observa en la **Tabla 27** se realizó el ANOVA de la concentración de Cd.

La hipótesis nula y alterna planteadas para esta fase de la investigación son:

Hx: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* no redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

Hy: El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.

TABLA 27. Prueba ANOVA del Cd.

ANOVA					
CADMIO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5.186	3	1.729	682.345	<.001
Dentro de grupos	.020	8	.003		
Total	5.206	11			

Para la identificación de cuál de la hipótesis es la correcta, se utilizó el criterio de decisión siguiente:

Sig. \leq 0,05 Se rechaza la H_x, se acepta la H_y.

Sig. $>$ 0,05 Se acepta la H_x, se rechaza la H_y

En la **Tabla 27**, se muestra los valores de significancia menor de **0,05** entonces aceptamos la **H1** El uso de las *Pseudomona Aeruginosa* redujo de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023

V. DISCUSIÓN

En cuanto al **primer objetivo específico** que fue determinar las UFC/ml de *P. Aeruginosa* que reducen de manera óptima el Cd y Pb del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH. Los hallazgos fueron que, la UFC/ml de P.A. óptimo fue a una dilución de 10^{-3} dando para Pb 7.5×10^4 y para Cd 6.5×10^4 debido a que se tuvo en Pb una reducción del 27% y del Cd una reducción de 96.86 y más del 80% respectivamente. Estos resultados se respaldan con Grados (2018), que para obtener mayores porcentajes de remoción de arsénico en agua a condiciones naturales tuvo que usar 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona Aeruginosa* debido a que la mayor capacidad de remoción se logra a esta concentración en un 61.14% por un periodo de 72 días a condiciones naturales y un 95.36% a condiciones estériles en el mismo periodo. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Ni G et al. (2021) donde indica que en su suelo contaminado se inoculo la cepa de la *P. Aeruginosa* a concentraciones de 1×10^8 UFC/g en cada maceta por separado, mezclando bien para su respectiva absorción de la dilución en el suelo, concluyendo que la remoción en su suelo contaminado por NP y Cd fuer de 79.6% y 49.4%, respectivamente en un periodo de 30 días. En resumen, tanto el estudio de Grados (2018) como el de Ni G et al. (2021) concluyen que la *Pseudomona Aeruginosa* tiene la capacidad de remover eficientemente elementos tóxicos como el arsénico y los metales pesados del agua y del suelo; indicando que la concentración de UFC/ml en nuestros hallazgos es menor a las investigaciones de estos autores, pero aun así presenta una mayor remoción en Cd en un menor tiempo. Sin embargo, se requieren diferentes concentraciones de bacterias y diferentes periodos de tiempo para lograr altos porcentajes de remoción. Aun así, estos resultados demuestran el potencial de esta bacteria como una herramienta para la descontaminación ambiental.

En cuanto al **segundo objetivo específico** que fue determinar el tiempo óptimo de reducción de Cd y Pb del suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH. Los resultados mostraron que con la aplicación de la *Pseudomonas aeruginosa*, se logró reducir más del 80% del Cd a los 10 y 15 días, mientras que el Pb solo se redujo en un 27% a los 15 días después de su inoculación. Los resultados se respaldan con Oziegbe (20221) ya que, el tiempo óptimo en su investigación fue de 8 días implementando la bacteria *P. Aeruginosa* reduciendo en este tiempo el Cd y Pb a un 78.87% y 92.41%. También, Esta similitud en los resultados refuerza la validez ya que, la aplicación de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* fue efectiva para reducir los niveles de Cd y Pb en el suelo en un tiempo de 8 días, con una mayor eficacia en la reducción de Cd en comparación con Pb. Estos resultados sugieren que esta técnica puede ser utilizada como una estrategia de remediación de suelos contaminados con metales.

En cuanto al **tercer objetivo específico** que fue determinar las características físico-químicas del suelo agrícola antes y después del tratamiento de la *Pseudomonas aeruginosa* en la empresa CAICAH. Los resultados obtenidos fueron que, antes de inocular la bacteria *P. Aeruginosa* a la tierra el pH fue de 7.41; y después de inocular la bacteria en el tratamiento de 5, 10 y 15 días presentó en promedio un pH de 6.72; 7.16 y 6.32 respectivamente.

Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Ni G. (2021). Quien también determinó que, El suelo presentó las siguientes propiedades: pH 5,99, materia orgánica 9.39 g kg⁻¹, nitrógeno hidrolizable alcalino 41.07 mg kg⁻¹, fósforo disponible 22.28 mg kg⁻¹, potasio disponible 160 mg kg⁻¹ y Cd total 1.48 mg kilos⁻¹ realizándose experimentos en 9 macetas con suelo co-contaminado con Cd y NP. inoculando la cepa de *P. Aeruginosa* (1 × 10.8 UFC/g de suelo) en cada maceta por separado, donde se mezclaron bien y se sembraron después de 2 días de estabilización. La tasa de remoción de NP y Cd fueron 79.6% y 49.4%, respectivamente. En nuestro tratamiento, los resultados obtenidos antes de inocular la bacteria *P. Aeruginosa* a la tierra el pH fue de 7,41; y después de inocular la bacteria en el tratamiento de 5, 10 y 15 días presentó en promedio un pH de 6.72; 7.16 y 6.32

respectivamente, así mismo concuerda con Oziegbe et al (2021). Que en su trabajo identifico que el rango de pH de 5 a 8 mejora el potencial de biorremediación de metales pesados por *Pseudomonas Aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella edwardsii*, haciendo que las bacterias puedan degradar eficientemente la mayoría de los contaminantes del suelo dentro de este rango de pH. Los porcentajes más altos de remediación fueron en Cd y Pb (79.87% y 92.41%) en un tiempo de 8 días después de la incubación.

Esta similitud en los resultados refuerza la validez y la consistencia de los hallazgos, ya que ambas investigaciones convergen, llegan a la conclusión que un pH entre 5 y 8 mejora el potencial de biorremediación de metales pesados por parte de *Pseudomonas aeruginosa*. Además, se observó una alta tasa de remoción de los contaminantes NP y Cd en el suelo, lo que sugiere que la bacteria podría ser efectiva en la biorremediación de estos contaminantes. Sin embargo, se requieren más investigaciones para determinar la eficacia a largo plazo de este tratamiento y su aplicabilidad en diferentes condiciones ambientales.

En cuanto al **cuarto objetivo específico** que es determinar el % de reducción de cadmio y plomo mediante la *pseudomona aeruginosa* en la empresa CAICAH para Oziegbe (2021), La mayor capacidad de biorremediación entre los aislados bacterianos con porcentajes de remediación fueron de 58.80% y 33.67% a 50 mg Cd L-1 y 300 mg Pb L-1, respectivamente. Los porcentajes más altos de remediación (79.87% y 92.41%). Así mismo concuerda con Ni G et al. (2021) al mencionar que La tasa de remoción de NP y Cd fueron 79.6% y 49.4%, respectivamente. Así mismo son consistentes con los hallazgos de Rojas, M. y Rengifo, N. (2020). Dando como resultado de porcentaje de reducción finales de 82.65%, 81.41%, 80.33%, 81.16% en las 4 muestras durante un tiempo de tratamiento de una semana.

los estudios mencionados muestran que tanto el aislado bacteriano de Oziegbe (2021) como los estudios de Ni et al. (2021) y Rojas y Rengifo (2020) han demostrado una alta capacidad de biorremediación en la remoción de contaminantes como Cd y NP, con porcentajes de remediación

que varían entre el 49.4% y el 92.41%. Estos hallazgos destacan la eficacia de estos aislados bacterianos en la eliminación de contaminantes y sugieren su potencial aplicación en la limpieza de ambientes contaminados.

En cuanto al **objetivo general** que es evaluar la reducción de cadmio y plomo por la *pseudomona aeruginosa* en el suelo agrícola de la empresa CAICAH.

En nuestros hallazgos se determinó que la *pseudomona aeruginosa* sí reduce al cadmio y plomo, ya que presenta altas tasas de remoción de más del 80% y de un 27% respectivamente. Dando a entender que el uso de esta bacteria es eficaz en la eliminación de contaminantes de metales pesados en suelos agrícolas.

Los hallazgos se respaldan en Oziegbe et al. (2021) determinó que las bacterias pueden degradar eficientemente la mayoría de los contaminantes del suelo proporcionando así una recuperación efectiva de suelos contaminados y el rendimiento de los cultivos. También se respaldan en Raja, E. (2018). En su hallazgo menciona que las Pseudomonas pueden aislarse y seleccionarse por su potencial que tiene para promover el crecimiento de las plantas y la acumulación de metales pesados por parte de estas. La inoculación al suelo contaminado con Cd con bacterias tolerantes a los metales como lo es la Pseudomona, no sólo da protección a las plantas contra los efectos tóxicos de los metales pesados, sino que también aumenta significativamente el crecimiento en las plantas elevando la biomasa de brotes, raíces y el contenido de clorofila de las hojas. También se respaldan en Xu et al. (2019). determinó que la Pseudomonas sp. La cepa 375 es un biosorbente prometedor para la biorremediación del metal pesado Cd²⁺. También son consistentes con Vladimir Lapcik (2023) En efecto, a medida que aumentaba la concentración, el crecimiento de *P. Aeruginosa* se reducía progresivamente, Curiosamente, *P. Aeruginosa* mostró tolerancia hasta 100 mg mL⁻¹, así como propiedades esenciales para generar el crecimiento de la flora como la secreción de sideróforos e IAA, la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos.

En conclusión, los estudios mencionados respaldan la efectividad de las bacterias, especialmente Pseudomonas, en la degradación de

contaminantes del suelo y en la promoción del crecimiento de las plantas en suelos contaminados con metales pesados como el Cd⁺². Estas bacterias no solo protegen a las plantas contra los efectos tóxicos de los metales pesados, sino que también aumentan significativamente su biomasa y contenido de clorofila. Además, la cepa *Pseudomonas* sp. 375 se ha identificado como un promotor biosorbente para la biorremediación del Cd⁺². Aunque el crecimiento de *P. Aeruginosa* se ve reducido a altas concentraciones de metales pesados, esta bacteria muestra tolerancia hasta cierto punto y tiene propiedades esenciales para promover el crecimiento de la flora. Estos hallazgos demuestran el potencial de las bacterias en la recuperación de suelos contaminados y en la mejora del rendimiento de los cultivos en condiciones adversas.

VI. CONCLUSIONES

1. Las UFC/ml de *Pseudomona Aeruginosa* adecuada para la reducción de Cadmio y Plomo es a una dilución de 10^{-3} con una concentración 6.5×10^4 UFC/ml y 7.5×10^4 UFC/ml debido a que en estas concentraciones el Cd y Pb presentan mayor % de reducción.
2. El tiempo óptimo para reducir las concentraciones de Plomo y Cadmio en el suelo agrícola mediante la inoculación de la *P. Aeruginosa* es en Pb a los 15 días, ya que presenta una reducción del 27% (27.88 mg/Kg) y en el Cd el tiempo óptimo se da a los 10 y 15 días dando una reducción de 96.86% (0.05 mg/Kg) y de más del 80% (<0.33 mg/Kg) respectivamente.
3. Las características fisicoquímicas antes y después del tratamiento con la *Pseudomona Aeruginosa* del suelo agrícola de la empresa CAICAH, los valores antes del tratamiento son: Color= 10 YR 5/2 (en seco) y 10 YR 2.5/2 (en húmedo), $T^\circ = 24.5^\circ\text{C}$, pH= 7.41, CE= 517 $\mu\text{S/cm}$, Humedad= 33.3%, Materia orgánica= 1,80%, Densidad Real= 2.90 g/cm³, Densidad aparente= 2.30 g/cm³, Concentración de Pb= 39.24 mg/Kg y Concentración de Cd= 1.59 mg/Kg. Luego del tratamiento, se dieron resultados por tres tiempos de aplicación dando en el pH= 6.72; 7.16 y 6.32; en $T^\circ = 19.8^\circ\text{C}$; 21°C y 27°C ; en CE= 534.5 $\mu\text{S/cm}$; 501.23 $\mu\text{S/cm}$ y 623.66 $\mu\text{S/cm}$; en Humedad= 5.36%; 7.08% y 8.65%; en Materia orgánica= 1.13%; 1.25% y 1.39%; en Densidad Real= 0.076 g/cm³; 1.30 g/cm³ y 2.01 g/cm³; En Densidad aparente= 1.18 g/cm³; 1.25 g/cm³ y 2.02 g/cm³; en concentración de Pb= 33.60 mg/Kg; 34.61 mg/Kg y 28.65 mg/Kg; en concentración de Cd= 1.36 mg/Kg; 0.05 mg/Kg y <0.33 mg/Kg.
4. La concentración de Cadmio al tiempo de tratamiento de 5, 10 y 15 días fue de 1.36 mg/Kg; 0.05 mg/Kg y <0.33 mg/Kg respectivamente; pudiendo observar que la reducción más óptima fue a los 10 y 15 días con un % de reducción del 96,86% y más del 80% respectivamente, en cuanto al Pb en el tiempo de 5,10 y 15 días nos dio una concentración de 33.60 mg/Kg; 34.61 mg/Kg y 28.65 mg/Kg respectivamente, observando mayor reducción a los 15 días con un porcentaje de reducción del 27%.

5. La bacteria *Pseudomona Aeruginosa* sí logró reducir las concentraciones de Plomo y Cadmio en el suelo agrícola de la empresa CAICAH, Tingo María; en un 27% y más del 80 % en un periodo de inoculación de 15 días.

VII. RECOMENDACIONES

- Para próximas investigaciones que las concentraciones de Cadmio y Plomo sean mayores en suelos agrícolas para así observar una mayor reducción con la *Pseudomona Aeuginosa*.
- Aumentar las concentraciones de UFC/ml de *Pseudomona Aeruginosa* en diferentes periodos para saber si esta bacteria puede eliminar al Plomo presente en el suelo en su totalidad
- Realizar investigaciones con la *Pseudomona Aeruginosa*, para determinar si puede reducir las concentraciones de otros metales pesados.
- En otras investigaciones se recomienda nutrir al suelo en tratamiento y darle reposición hídrica para que no se vea alterado en los análisis fisicoquímicos.

REFERENCIAS

BARREZUETA-UNDA, Salomón, 2019. Propiedades de algunos suelos cultivados con cacao en la provincia El Oro, Ecuador. *CienciaUAT*. Online. 2019. Vol. 14, no. 1, p. 155. DOI <http://dx.doi.org/10.29059/cienciauat.v14i1.1210>.

BELTRÁN-PINEDA, Mayra Eleonora and GÓMEZ-RODRÍGUEZ, Alida Marcela, 2016. Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. Online. 2016. Vol. 12, no. 2, p. 172–197. <http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2027>

BERLANGA, Mercedes and GUERRERO, Ricardo, 2017. La complejidad de lo simple: la célula bacteriana. *Química Viva*. Online. 2017. Vol. 16, no. 2, p. 11–19. Available from: BERLANGA, Mercedes and GUERRERO, Ricardo, 2017. La complejidad de lo simple: la célula bacteriana. *Química Viva*. Online. 2017. Vol. 16, no. 2, p. 11–19. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86352507003>

CÂNDIDO, Geraldo S., MARTINS, Gabriel C., VASQUES, Isabela C. F., LIMA, Francielle R. D., PEREIRA, Polyana, ENGELHARDT, Mateus M., REIS, Rayner H. C. L. and JOSÉ MARQUES, João, 2020. Toxic effects of lead in plants grown in brazilian soils. *Ecotoxicology (London, England)*. Online. 2020. Vol. 29, no. 3, p. 305–313. DOI: [10.1007/s10646-020-02174-8](https://doi.org/10.1007/s10646-020-02174-8)

CAPATINA, Denisa, FEIER, Bogdan, HOSU, Oana, TERTIS, Mihaela and CRISTEA, Cecilia, 2022. Analytical methods for the characterization and diagnosis of infection with *Pseudomonas aeruginosa*: A critical review. *Analytica chimica acta*. Online. 2022. Vol. 1204, no. 339696, p. 339696. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2022.339696>

CHELLAIAH, Edward Raja, 2018. Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Applied water science*. Online. 2018. Vol. 8, no. 6. DOI 10.1007/s13201-018-0796-5. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0796-5>

CORREA CUBA, Odilon, 2021. CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS DE LA MICROCUENCA AGROPECUARIA DEL RÍO HUANCARAY– PERÚ. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. Online. 2021. Vol. 87, no. 1, p. 26–38. [Accessed 14 December 2023]. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v87i1.320>.

FAO, Una Realidad, 2019. LA CONTAMINACIÓN DEL SUELO. *Fao.org*. Online. [Accessed 14 December 2023]. Available from: <https://www.fao.org/3/i9183es/i9183es.pdf>

FORERO-CABRERA, Nathalia María, CAMACHO-TAMAYO, Jesús Hernán, RAMÍREZ-LÓPEZ, Leonardo and RUBIANO SANABRIA, Yolanda, 2016. EVALUACIÓN DE TEXTURA DEL SUELO CON ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO EN UN OXISOL DE COLOMBIA. *Colombia forestal*. Online. 2016. Vol. 20, no. 1, p. 5. DOI: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.1.a01>

FRIGOLI, Margaux, LOWDON, Joseph W., CALDARA, Manlio, ARREGUIN-CAMPOS, Rocio, SEWALL, Julia, CLEIJ, Thomas J., DILIËN, Hanne, EERSELS, Kasper and VAN GRINSVEN, Bart, 2023. Thermal pyocyanin sensor based on molecularly imprinted polymers for the indirect detection of *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS sensors*. Online. 2023. Vol. 8, no. 1, p. 353–362. <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c02345>

GUÍA PARA EL MUESTREO DE SUELOS, [no date]. Gob.pe. Online. [Accessed 14 December 2023]. Available from: <https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELOS-final.pdf>.

<https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELOS-final.pdf>

HELLIWELL, Jon R., STURROCK, Craig J., MILLER, Anthony J., WHALLEY, W. Richard and MOONEY, Sacha J., 2019. The role of plant species and soil condition in the structural development of the rhizosphere. *Plant, cell & environment*. Online.

2019. Vol. 42, no. 6, p. 1974–1986. [Accessed 14 December 2023].
DOI: [10.1111/pce.13529](https://doi.org/10.1111/pce.13529)

HERNÁNDEZ-BARANDA, Yenisei, RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, Pedro, PEÑA-ICART, Mirella, MERIÑO-HERNÁNDEZ, Yanitza and CARTAYA-RUBIO, Omar, 2019. Toxicidad del Cadmio en las plantas y estrategias para disminuir sus efectos. Estudio de caso: El tomate. *Cultivos tropicales*. Online. 2019. Vol. 40, no. 3. [Accessed 14 December 2023]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362019000300010

HER, Lizeth, PEÑA MANJARREZ, Maribel, VICTORIA, Ana, REYES, Gutiérrez, LIZETH GONZÁLEZ TREVIZO, Cynthia, MONTES FONSECA, Silvia Lorena, GUADALUPE, Gladys, AVALOS, López, MARTÍNEZ, Rodríguez, REYES, A. V. Gutiérrez, GONZÁLEZ, C. L., TREVIZO, S. L. and AVALOS, G. G. López, [no date]. Biorremediación de arsénico mediada por microorganismos. Org.mx. Online. [Accessed 15 December 2023]. Available from: <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v35n4/2395-8030-tl-35-04-00353.pdf>

ICHAMI, Stephen M., KARUKU, George N., SILA, Andrew M., AYUKE, Fredrick O. and SHEPHERD, Keith D., 2022. Spatial approach for diagnosis of yield-limiting nutrients in smallholder agroecosystem landscape using population-based farm survey data. *PloS one*. Online. 2022. Vol. 17, no. 2, p. e0262754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262754>

INSTITUTO de geografía UNAM, 2020. Manual de evaluación de suelo. Énfasis en memoria edáfica, materia orgánica e hidroedafología. *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*. Online. [Accessed 14 December 2023]. Available from: <https://www.smcsmx.org/files/concurso/2020/Manual3CMES2020.pdf>

JULIÁN BENITES, Alicia Mercedes and RIVERO MÉNDEZ, José Félix, 2023. Biorremediación de Agua y Suelo Contaminados por Residuos Orgánicos de Petróleo en Iquitos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. Online. 2023. Vol. 7, no. 5, p. 7059–7090. DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.8291

KAUR, Navneet, KAUR, Jagmeet, GREWAL, Satvir Kaur and SINGH, Inderjit, 2019. Effect of heat stress on antioxidative defense system and its amelioration by heat

acclimation and salicylic acid pre-treatments in three Pigeonpea genotypes. *Indian journal of agricultural biochemistry*. Online. 2019. Vol. 32, no. 1, p. 106. DOI: [10.5958/0974-4479.2019.00014.5](https://doi.org/10.5958/0974-4479.2019.00014.5)

LAN CHI, Nguyen Thuy, THU HU'ONG, Đinh Thị, ĐẠO, Phan and LAPCIK, Vladimir, 2023. Phytoremediation proficiency of *Jatropha gossypifolia* under the influence of *Pseudomonas aeruginosa* on metal contaminated soil. *Environmental research*. Online. 2023. Vol. 232, no. 116295, p. 116295. DOI <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116295>.

LUJAN, Daniel. Uso de *Pseudomonas Aeruginosa* en biorremediación. *Biotecnología en línea* . 2019 (23). Fecha de consulta: 23 de octubre de 2021.

Disponible en:

https://smbb.mx/wp-content/uploads/2019/08/5.Lujan_2019.pdf

MAZA, Paz and MILAGROS, Pilar, 2019. Reducción de mercurio en suelos contaminados del campamento de la mina Santa Bárbara usando *Pseudomonas putida* en Huancavelica. Universidad César Vallejo. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/40583>

MEDINA MÉNDEZ, Juan, VOLKE HALLER, Víctor, GALVIS SPÍNOLA, Arturo, CORTÉS FLORES, José Isabel and SANTIAGO CRUZ, Ma De Jesús, 2017. Incremento de la materia orgánica del suelo y rendimiento de mango en Luvisoles, Campeche, México. *Agronomía mesoamericana: organo divulgativo del PCCMCA, Programa Cooperativo Centroamericano de Mejoramiento de Cultivos y Animales*. Online. 2017. Vol. 28, no. 2, p. 499. DOI <https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.22236>.

METER, A., ATKINSON, R. J. and LALIBERTE, B., 2019. Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe. Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación. CAF. ISBN 9789804221620.

<https://bit.ly/3baFnwA>

MINISTERIO DE ECONOMÍA Y FINANZAS. Clasificadores presupuestarios. Perú, 2021. [Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2021]. Disponible en: <http://dnpp.mef.gob.pe/cnsClasif/>

NI, Gang, SHI, Guangyu, HU, Chengxiao, WANG, Xu, NIE, Min, CAI, Miaomiao, CHENG, Qin and ZHAO, Xiaohu, 2021. Selenium improved the combined remediation efficiency of *Pseudomonas aeruginosa* and ryegrass on cadmium-nonylphenol co-contaminated soil. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987). Online. 2021. Vol. 287, no. 117552, p. 117552. DOI 10.1016/j.envpol.2021.117552. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117552>

NIKOLOPOULOU, Kassiani, 2022. What is probability sampling? Scribbr. Online. 5 July 2022. [Accessed 15 December 2023]. Available from: <https://www.scribbr.com/methodology/probability-sampling/>

NOVILLO ESPINOZA, Indira Dayanara, CARRILLO ZENTENO, Manuel Danilo, CARGUA CHÁVEZ, Jessica Elizabeth, MOREIRA ZAMBRANO, Virginia Nabel, ALBÁN SOLARTE, Karla Estefanía and MORALES INTRIAGO, Fátima Lourdes, 2018. Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Temas agrarios*. Online. 2018. [Accessed 14 December 2023]. Available from: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5297>

OZIEGBE, O., OLUDURO, A. O., OZIEGBE, E. J., AHUEKWE, E. F. and OLORUNSOLA, S. J., 2021. Assessment of heavy metal bioremediation potential of bacterial isolates from landfill soils. *Saudi journal of biological sciences*. Online. 2021. Vol. 28, no. 7, p. 3948–3956. DOI 10.1016/j.sjbs.2021.03.072. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.072>

PAN, Hanyue, LIANG, Jia, ZHAO, Ye and LI, Fangfang, 2020. Facing the 3rd national land survey (cultivated land quality): soil survey application for soil texture detection based on the high-definition field soil images by using perceptual hashing algorithm (pHash). *Journal of soils and sediments*. Online. 2020. Vol. 20, no. 9, p. 3427–3441. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11368-020-02657-5>

PERALES-AGUILAR, Lucila, ESQUIVEL-RIVERA, José Antonio, SILOS-ESPINO, Héctor, CARRILLO-RODRÍGUEZ, José Cruz and PERALES-SEGOVIA, Catarino, 2021. Tolerancia de plantas de zonas áridas a metales pesados. *Terra Latinoamericana: organo científico de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*, A.C. Online. 2021. Vol. 39. [Accessed 15 December 2023]. DOI <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.759>.

PLANET, Paul, 2023. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Sixth Edition), Pseudomonas aeruginosa. Disponible en: <https://www.us.elsevierhealth.com/principles-and-practice-of-pediatric-infectious-diseases-9780323756082.html>

QUISPE VÉLEZ, Guisela y CORAL PERALTA, Katherine, 2018. Biosorción de pb+2 por la bacteria pseudomona aeruginosa en suelo contaminado por minerales. Online. [Accessed 15 December 2023]. Available from: https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/4087/QUISPE%20VELEZ%20Y%20CORAL%20PERALTA_PREGRADO_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

RAMÍREZ, Julián, PARRA, Jhon y ÁLVAREZ, Adalucy, 2022. Vista de Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Edu.co*. Online. [Accessed 13 October 2023]. Available from: https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/view/3665/3060

RIDENE, Sirine, WERFELLI, Naima, MANSOURI, Ahlem, LANDOULSI, Ahmed and ABBES, Chiraz, 2023. Bioremediation potential of consortium Pseudomonas Stutzeri LBR and Cupriavidus Metallidurans LBJ in soil polluted by lead. *PloS one*. Online. 2023. Vol. 18, no. 6, p. e0284120. DOI <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0284120>.

RIZVI, Asfa and KHAN, Mohd Saghir, 2017. Biotoxic impact of heavy metals on growth, oxidative stress and morphological changes in root structure of wheat (*Triticum aestivum* L.) and stress alleviation by *Pseudomonas aeruginosa* strain CPSB1. *Chemosphere*. Online. 2017. Vol. 185, p. 942–952. [Accessed 15 December 2023]. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.07.088. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28747006/>

ROJAS, Maricarmen y RENGIFO, Noor. “Biodegradación de petróleo por *Pseudomonas aeruginosa* en aguas de derrame de la actividad petrolera, Ucayali-2020”. Tesis (Licenciatura en Ingeniería Ambiental). Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali, 2021.

ROSALES HUAMANI, Jimmy Aurelio, CENTENO ROJAS, Luis, CAJACURI PEREZ, Jhomara Ruth, BREÑA ORE, Jorge and CHÁVEZ CHAPANA, Carlos, 2021. Identificación de Cadmio y Plomo en los cultivos de Cacao ubicados en la zona de Satipo - Junín. *Revista TECNIA*. Online. 2021. Vol. 31, no. 2, p. 83–89. <http://dx.doi.org/10.21754/tecnica.v21i2.1062>.

ROSALES, Alejandro Pérez, GALVIS SPÍNOLA, Arturo, MONTOYA, Rubén Bugarín, MARCELA, Teresa, MENDOZA, Hernández, ALBERTO, Mario, PEÑA, Vázquez, AGUSTÍN, Y. and GONZÁLEZ, Rodríguez, [no date]. Capacidad de intercambio catiónico: descripción del método de la tiourea de plata (AgTU + n)

* Cation exchange capacity: description of the silver thiourea method (AgTU + n). Redalyc.org. Online. [Accessed 15 December 2023]. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263149891022.pdf>

SADZAWKA R., Angélica. Qué es el pH del suelo. Online. 1998. [Accessed 19 December 2023]. Available from: <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/5629>

SHI, Guang-Yu, YAN, Ying-Jia, YU, Zhi-Qiang, ZHANG, Lu, CHENG, Yuan-Yuan and SHI, Wei-Lin, 2020. Modification-bioremediation of copper, lead, and cadmium-contaminated soil by combined ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and *Pseudomonas aeruginosa* treatment. *Environmental science and pollution research international*. Online. 2020. Vol. 27, no. 30, p. 37668–37676. DOI: [10.1007/s11356-020-09846-2](https://doi.org/10.1007/s11356-020-09846-2)

SHI, Peili, ZHU, Kangxing, ZHANG, Yuxiu and CHAI, Tuanyao, 2016. Growth and Cadmium Accumulation of *Solanum nigrum* L. Seedling were Enhanced by Heavy Metal-Tolerant Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Water, air, and soil pollution*. Online. 2016. Vol. 227, no. 12. DOI <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3167-6>

SHI, Taoran, MA, Jin, ZHANG, Yunyun, LIU, Chengshuai, HU, Yanbin, GONG, Yiwei, WU, Xiao, JU, Tienan, HOU, Hong and ZHAO, Long, 2019. Status of lead accumulation in agricultural soils across China (1979–2016). *Environment international*. Online. 2019. Vol. 129, p. 35–41. DOI <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.025>.

SOLANO, Sandra Georgina, MANUEL, Victor, ZARZA, Paz, MORDANI, Simran Mangwani, MALDONADO, Alejandra Martínez, ÁLVAREZ HERNÁNDEZ, Diego, SOLANO-GÁLVEZ, Sandra and ROSALINO VÁZQUEZ-LÓPEZ, Y., [no date]. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Conicyt.cl. Online. [Accessed 15 December 2023]. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v36n2/0716-1018-rci-36-02-0180.pdf>.

SUÁREZ, Juan Pablo, HERRERA, Paulo, KALINHOFF, Carolina, VIVANCO-GALVÁN, Oscar and THANGASWAMY, Selvaraj, 2023. Generalist arbuscular mycorrhizal fungi dominated heavy metal polluted soils at two artisanal and small – scale gold mining sites in southeastern Ecuador. *BMC microbiology*. Online. 2023. Vol. 23, no. 1. DOI 10.1186/s12866-022-02748-y. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-022-02748-y>

TANG, Lu, CHEN, Wenwan, LUO, Xinghua, ZHANG, Gubin, FENG, Xiang, GUO, Lin, GAO, Wenyan, HE, Jin, ZHAO, Guizhang, JIANG, Jun and XUE, Shengguo, 2023. Multi-technological integration in a smelting site: Visualizing pollution characteristics and migration pattern. *Journal of hazardous materials*. Online. 2023. Vol. 459, no. 132135, p. 132135. [Accessed 14 December 2023]. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132135>

VALLADOLID, Zapata and CARLO, Jean, 2019. Contenido de metales pesados en vegetación alrededor de una mina cerrada en la región Piura. Online. 2019. [Accessed 15 December 2023]. Available from: <https://pirhua.udep.edu.pe/items/5a095530-27d2-4b6d-9eef-821896d4407c>

VELÁSQUEZ, Iliana María Ramírez, RAMÍREZ, Andrés Felipe Vargas and CADAVID, Andrés Felipe Arroyave, 2022. Relación entre el pH y las mediciones de conductividad eléctrica en un suelo cultivable ubicado en Medellín, Colombia. *Revista Ingenierías USBMed*. Online. 2022. Vol. 13, no. 2, p. 1–11. [Accessed 19 December 2023]. Available from: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/536/5363548006/>

VELÁSQUEZ-VÉLEZ, María Isabel, GALVIS LORA, Carolina, MEJÍA-CÓRDOBA, Carlos Arturo and ZAPATA GUZMAN, Jaime Enrique, 2022. Implicaciones de la

acumulación de Cadmio en la cadena productiva del cacao. Manglar (Tumbes). Online. 2022. Vol. 19, no. 4, p. 391–397. DOI 10.57188/manglar.2022.049.<http://www.scielo.org.pe/pdf/mang/v19n4/2414-1046-manglar-19-04-391.pdf>

XU, Shaozu, XING, Yonghui, LIU, Song, HAO, Xiuli, CHEN, Wenli and HUANG, Qiaoyun, 2020. Characterization of Cd²⁺ biosorption by *Pseudomonas* sp. strain 375, a novel biosorbent isolated from soil polluted with heavy metals in Southern China. *Chemosphere*. Online. 2020. Vol. 240, no. 124893, p. 124893. [Accessed 15 December 2023]. DOI10.1016/j.chemosphere.2019.124893.<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124893>.

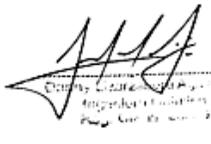
ANEXOS

TABLA 28. Operacionalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Escala de medición
Variable Dependiente: Reducción de Cadmio y plomo en el suelo agrícola	<p>Según Trigos, D. (2017) El Cd es un metal pesado que se encuentra en la tabla periódica (Grupo IIB) cuyo peso atómico es de 112.41, con la forma iónica de Cd⁺², situándose en el suelo introducido por el constante uso de los agroquímicos, contacto con las aguas residuales, riego con presencia de este metal o por la deposición de partículas que provienen de procesos industriales (p. 5).</p> <p>Como define la FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) Los suelos agrícolas contaminados con Cd, son un riesgo para todo medio de vida rural y perjudicando a la vez a la salud humana creando riesgos en la seguridad de los alimentos siendo una gran preocupación el medio debido a la toxicidad; las concentraciones de Cd pueden acumularse en la fauna que no son tóxicas para ellas, pero son tóxicas para los animales y las personas que los consumen (p.81-82, 2019).</p>	<p>Se determinará las características fisicoquímicas del suelo antes y después de utilizar la <i>Pseudomona Aeruginosa</i>. Además, se determinará el porcentaje de reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb)</p>	Características físico químicas del suelo antes y después del tratamiento	pH	Unidad de pH	Intervalo
				Color	Munsell Soil Color Chart	Nominal
				Densidad	(g/cm ³)	Razón
				Conductividad eléctrica	µS/cm	
				Materia orgánica	%	Razón
				Temperatura	°C	
			Porcentaje de reducción de Cadmio y Plomo	Ci Cd Cf Cd Ci Pb Cf Pb	mg/kg	Razón
				$\% = [(Cf \cdot 100 / Ci)] - 100$	%	
Variable Independiente: Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	<p>La <i>Pseudomona Aeruginosa</i> es un bacilo Gram Negativo aerobio, catalasa y oxidasa positiva, no fermentadora de glucosa y lactosa y metabólicamente versátil, capaz de crecer en temperaturas de 4°C y 42°C. (Ruiz, L., 2018, p. 15).</p>	<p>La bacteria <i>Pseudomona A.</i> se administrará a diferentes concentraciones cuyo objetivo es determinar la cantidad óptima de UFC por ml que logre la mayor reducción de Cd y Pb en el suelo agrícola.</p>	Cantidad de bacterias	Número de <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	UFC/ml	Razón
			Tiempo del tratamiento	Tiempo	Horas (H)	Nominal

ANEXO 2 Instrumentos de validación

 UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	Ficha 1. Lugar y ubicación del punto de muestreo				
TÍTULO	<i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023				
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN	Calidad y gestión de los recursos naturales				
FACULTAD	Ingeniería y Arquitectura				
INTEGRANTES	Salvador Simon, Estela				
	Canales Palomino, Anabel Johanna				
ASESOR	Dr. Ordoñez Gálvez, Juan Julio				
I. Datos generales					
Nombre del sitio en estudio		Provincia		Departamento	
II. Datos del punto de muestreo					
Coordenada UTM (UTM, WGS84)	X:	Y:	Foto referencial del lugar de estudio		
Técnica de muestreo					



Ing. Danny Lizarzaburu
Aguinaga



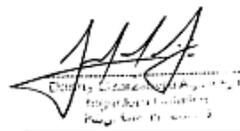
Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivares
DOCENTE E INVESTIGADOR
CIP: 130267
RENACYT: P0078275



Ing. Fiorella Vanessa Güere
Salazar

 UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO		Ficha 2. Características fisicoquímicas del suelo agrícola, antes y después del tratamiento									
TÍTULO		<i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023									
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN		Calidad y gestión de los recursos naturales									
FACULTAD		Ingeniería y Arquitectura									
INTEGRANTES		Salvador Simon, Estela Canales Palomino, Anabel Johanna									
ASESOR		Dr. Ordoñez Gálvez, Juan Julio									
Parámetros		Antes del tratamiento		Después del tratamiento							
		Muestra control		Tratamiento 1			Tratamiento 2		Tratamiento 3		
		M0		M1T1	M2T1	M3T1	M4T2	M5T2	M6T2	M7T3	M8T3
Físicos	Temperatura (°C)										
	Densidad (g/cm ³)	Real									
		Aparente									
	Color										
	Humedad (%)										
Químicos	Potencial de hidrógeno										
	Materia Orgánica (%)										
	Conductividad eléctrica (dS/m)										
	Concentración de Pb (mg/kg)										
	Concentración de Cd (mg/kg)										

M1T1: Muestra 01 – Tratamiento 1
M2T1: Muestra 02 – Tratamiento 1
M3T1: Muestra 03 – Tratamiento 1
M4T2: Muestra 04 – Tratamiento 2
M5T2: Muestra 05 – Tratamiento 2
M6T2: Muestra 06 – Tratamiento 2
M7T3: Muestra 07 – Tratamiento 3
M8T3: Muestra 08 – Tratamiento 3
M9T3: Muestra 09 – Tratamiento 3



Ing. Danny Lizarzaburu
Aguinaga

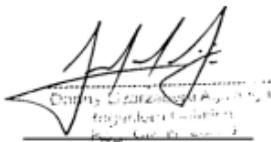


Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera
DOCENTE E INVESTIGADOR
CIP: 130267
RENACYT: P0078275



Ing. Fiorella Vanessa Güere
Salazar

 UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO		Ficha 3. Conteo de bacterias y tiempo de tratamiento		
TÍTULO		<i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la reducción de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023		
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN		Calidad y gestión de los recursos naturales		
FACULTAD		Ingeniería y Arquitectura		
INTEGRANTES		Salvador Simon, Estela		
		Canales Palomino, Anabel Johanna		
ASESOR		Dr. Ordoñez Gálvez, Juan Julio		
Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>		Tratamientos		
		Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Número de bacterias	UFC/ml			
Tiempo del tratamiento	Días			


 Ing. Danny Lizaraburu Aguinaga


 Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera
 DOCENTE E INVESTIGADOR
 CIP: 130267
 RENACYT: P0078275


 Ing. Fiorella Vanessa Güere Salazar

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS
I. DATOS GENERALES

- 1.1. Nombres y Apellidos : **Dr. CASTAÑEDA OLIVERA, CARLOS ALBERTO**
 1.2. Cargo e institución donde labora : **Docente e Investigador / UCV Campus Los Olivos**
 1.3. Línea de investigación : **Tecnología Ambiental y Mineral**
 1.4. Nombre de los instrumentos : **Ficha 1. Lugar y ubicación del punto de muestreo
 Ficha 2. Características fisicoquímicas del suelo agrícola, antes y después del tratamiento.
 Ficha 3. Conteo de bacterias v tiempo de tratamiento**
 1.5. Autor (es) del instrumento : **Canales Palomino, Anabel y Salvador Simon, Estela**

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MÍNIMAMENTE ACEPTABLE				ACEPTABLE		
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidad reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una relación lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales.											X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda con fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas, objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde a una metodología y diseño aplicados para lograr probar la hipótesis.											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El instrumento cumple con los requisitos para su aplicación.
- El instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación.

Si
-

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90%

Lima, 10 de diciembre de 2023



Dr. Ing. Carlos Alberto Castañeda Olivera
 DOCENTE E INVESTIGADOR
 CIP: 130267
 RENACYT: P0078275

ANEXO 3

Solicitud De Laboratorio de la Universidad UCV

Lima, 24 de octubre del 2023

Sra:

Lic. Lila Tapia Núñez
Coordinadora de la escuela Profesional de Ingeniería ambiental – LN de la UCV

ASUNTO: SOLICITUD DE USO DE LABORATORIO

Nosotras, Canales Palomino, Anabel Johanna identificada con N° DNI 705444069 y Salvador Simón, Estela identificado con N° DNI 76633906, alumnas de la EP de Ingeniería Ambiental, manifestamos lo siguiente.

Que estando en el proceso de culminación de nuestra tesis cuyo título de investigación es **“Pseudomona Aeruginosa para el tratamiento de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH – Tingó María – 2023”**, siendo nuestro asesor el Dr. Juan Julio Ordoñez Gálvez. Solicitamos el uso de materiales y equipos de laboratorio de biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo para así culminar satisfactoriamente nuestro desarrollo de proyecto de investigación. En tal sentido esperamos que nos pueda dar acceso al laboratorio desde el día miércoles 25 de octubre hasta el jueves 30 de noviembre del presente año .

HORARIOS	
Lunes	4.00 pm
Martes	12:00 pm – 3:45 pm
Miércoles	8:00 am – 12:00 pm
Jueves	10:00 am – 3:45 pm

MATERIALES
Incubadora
Estufa
Mechero de bunsen
Autoclave
Materiales de Vidrio
Mufla

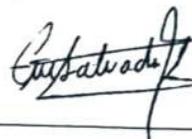


Sin otro particular nos despedimos de su digna persona esperando su gentil aceptación.

Atentamente:



Anabel, Canales Palomino
DNI: 70544069



Estela, Salvador Simón
DNI: 76633906



Dr. Ing. JUAN JOSÉ ORDOÑEZ GALVEZ
DNI: 88447388
CIP: 88772

ANEXO 4

Constancia de Certificación de la Cepa Bacteriana

CONSTANCIA DE CERTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS

EL QUE SUSCRIBE:

Juan José Guillermo Albitres, Biólogo-Microbiólogo y doctor en Gestión Ambiental hace constar que la cepa bacteriana de trabajo a utilizarse en el Proyecto de Tesis titulado "*Pseudomonas aeruginosa* para el tratamiento de Cadmio (Cd) y Plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH – Tingo María, 2023" presentado por la Srta. Anabel Johanna Canales Palomino ha sido obtenida de una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* de Referencia ATCC 9027.

Se firma la presente Constancia a los veinte días del mes de Octubre del año 2023.



JUAN JOSÉ GUILLERMO ALBITRES J
Biólogo - Microbiólogo
Doctor en Gestión Ambiental
COLUBOP. N° 359

ANEXO 5

Constancia del permiso de la Empresa CAICAH



COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL CACAO ALTO HUALLAGA
Área de Asistencia Técnica

Jr. Víctor Raúl Haya de la Torre N° 246 Castillo Grande – Tingo María – Teléfono: 062-561544

Email: caicah@cacaoaltohualлага.com Web: www.cacaoaltohualлага.com

“Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo”

Lima, 11 de octubre de 2023

Dra. Verónica Tello Mendivil
Directora de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental

Presente:

De mi consideración:

La presente es para saludarla cordialmente y a la vez autorizar, Que la Srta. **Estela, Salvador Simon**, identificada con documento de identidad N° 76633906, código N° 6700257909, estudiante del X ciclo de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo, sede Lima Norte; Quien desarrolla su trabajo de investigación: **“PSEUDOMONA AERUGINOSA PARA EL TRATAMIENTO DE CADMIO (CD) Y PLOMO (PB) EN EL SUELO AGRÍCOLA DE LA EMPRESA CACAOTERA CAICAH – TINGO MARÍA, 2023”**. Bajo el asesoramiento del Dr. **Juan Julio Ordoñez Gálvez**, identificado con documento de identidad N° 08447308.

Se le otorga el acceso a la planta de producción de la empresa cacaotera CAICAH, ubicado en Tingo María, con la finalidad de que tome muestras de los suelos agrícolas, de manera que pueda desarrollar su proyecto de investigación, para que así pueda obtener el título profesional de Ingeniera Ambiental y contribuir a la sociedad científica y el desarrollo sostenible de nuestra Nación.

Hago propicio expresarle las muestras de mi estima consideración.

Dr. Edilberto César Dávila Zamora
Coordinador técnico

ANEXO 6

Constancia de resultados de Análisis Microbiológicos

INFORME DE RESULTADOS DE
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS N° 01 – 2023

I. DATOS DEL SERVICIO

Nombres y Apellidos : ESTELA SALVADOR SIMON
 DNI : 76633906
 Dirección : LIMA, PERÚ
 Proyecto : *Pseudomona aeruginosa*: Reducción de cadmio (Cd), plomo (Pb) en suelo agrícola de la empresa cacaotera CAICAH - Tingo María, 2023.
 Procedencia : Huánuco – Leoncio Prado, Rupa Rupa
 Muestreado por : Canales Palomino, Anabel Johanna
 Fecha de emisión del informe : 05 / 12 / 23

II. DATOS DEL ITEMS DEL ENSAYO

Producto : Suelo Agrícola
 Tipo de ensayo : Análisis Microbiológico
 Número de muestras : 10
 Periodo de ensayo : Del 09 /11 /2023 al 02 /12 / 2023

III. RESULTADOS DE PROCEDIMIENTO

<i>Pseudomona. aeruginosa</i>	ANÁLISIS: MUESTRA INICIAL		
	Muestra 0 - 10 ⁻¹	Muestra 0 - 10 ⁻²	Muestra 0 - 10 ⁻³
CONTABILIZACIÓN DE UFC/ml	> 300	> 300	4 x10 ⁴

<i>Pseudomona. aeruginosa</i> 5 días de incubación	Tratamiento 1		
	M1T1 - 10 ⁻¹	M2T1 - 10 ⁻²	M3T1 - 10 ⁻³
CONTABILIZACIÓN DE UFC/ml	> 300	> 300	5 x10 ⁴

<i>Pseudomona aeruginosa</i> 10 días de incubación	Tratamiento 2		
	M4T2 - 10 ⁻¹	M5T2 - 10 ⁻²	M6T2 - 10 ⁻³
CONTABILIZACIÓN DE UFC/ml	> 300	> 300	6.5 x10 ⁴

<i>Pseudomona. aeruginosa</i> 15 días de incubación	Tratamiento 3		
	M7T3 - 10 ⁻¹	M8T3 - 10 ⁻²	M9T3 - 10 ⁻³
CONTABILIZACIÓN DE UFC/ml	> 300	> 300	7.5 x10 ⁴

Q.F. Rosalbina de la Cruz Davila
 CQFP. 05061
 DIRECTOR TÉCNICO

Q.F.B. ROSALBINA DE LA CRUZ DAVILA
 CQFP 05061

ANEXO 7

Resultados iniciales de laboratorio de la Universidad Agraria la Molina



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : ESTELA SALVADOR SIMON
PROCEDENCIA : HUANUCO/ LEONCIO PRADO/ RUPA RUPA
REFERENCIA : H.R. 81083
BOLETA : 6099
FECHA : 02/11/2023

Número Muestra		Pb	Cd
Lab	Claves	total ppm	total ppm
6542		39.24	1.59



Dr. Constantino Carderón Mendoza
Jefe del Laboratorio

ANEXO 8
Resultados de los 5 días de tratamiento del laboratorio de la Universidad Agraria La Molina (LAPAF)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : ESTELA SALVADOR SIMON
PROCEDENCIA : HUANUCO/ LEONCIO PRADO/ RUPA - RUPA
REFERENCIA : H.R. 81334
BOLETA : 6175
FECHA : 05/12/2023

Lab	Número Muestra	Pb total ppm	Cd total ppm
	Claves		
6973	M1	34.45	1.47
6974	M2	32.64	1.32
6975	M3	33.70	1.28



Dr. Constantino Calcarón Mendoza
Jefe del Laboratorio

ANEXO 9
Resultados de los 10 días de tratamiento del laboratorio de la Universidad Agraria La Molina (LAPAF)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : ESTELA SALVADOR SIMON
PROCEDENCIA : HUANUCO/ LEONCIO PRADO/ RUPA RUPA
REFERENCIA : H.R. 81390
BOLETA : 6193
FECHA : 07/12/2023

Lab	Número Muestra		Pb total ppm	Cd total ppm
	Claves			
7090	M4	- 10 días	36.88	0.05
7091	M5	- 10 días	34.84	0.05
7092	M6	- 10 días	32.12	0.05




Constantino Calderón Mendoza
Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
Celular: 946-505-254
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

ANEXO 10

Resultados de los 15 días de tratamiento del laboratorio SLab



SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS
S.A.C.

INFORME DE ENSAYO IE-2023-2022

1. DATOS DEL CLIENTE

1.1 Cliente : ESTELA SALVADOR SIMON
1.2 RUC o DNI : 76633906
1.3 Dirección : No Precisa

2. DATOS DE LA MUESTRA

2.1 Producto : SUELOS
2.2 Muestreado por : CLIENTE (c)
2.3 Número de Muestras : 01
2.4 Fecha de Recepción : 2023-11-27
2.5 Periodo de Ensayo : 2023-11-28 al 2023-12-04
2.6 Fecha de Emisión : 2023-11-07
2.7 Fecha y Hora de Muestreo : 2023-10-14 / 12:00 PM
2.8 N° de cotización : COT-134280-SL23

3. ENSAYO SOLICITADO - METODOLOGÍA UTILIZADA

ENSAYO	METODO
Metales Pesados: Arsénico, Plomo, Mercurio, Cromo, Cadmio	EPA METHOD 3050B, Rev. 2,1996 / EPA METHOD 200.7, Rev. 4.4,1994. Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Solis Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled PlasmaAtomic Emission Spectrometry

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS OBTENIDOS

Descripción de Muestra: M7 (c)

DIEGO ROMANO VERGARAY DURRIGO
QUÍMICO
CQP. 1337

Tabla N°1: RESULTADOS OBTENIDOS

Código de Laboratorio	Parámetro	Unidad	LCM	Resultados
S-3033	Arsénico, As	mg/Kg	2.67	<2.67
	Cadmio, Cd	mg/Kg	0.33	<0.33
	Cromo, Cr	mg/Kg	1.33	21.85
	Mercurio, Hg	mg/Kg	0.50	<0.50
	Plomo, Pb	mg/Kg	3.33	27.88

Leyenda

LCM: Límite de Cuantificación de Método.

(C) Información suministrada por el cliente.

FIN DE DOCUMENTO

- Sin la aprobación del laboratorio Sistema de Servicios y Análisis Químicos S.A.C. no se debe reproducir el informe de ensayo parcial, excepto cuando se reproduce en su totalidad.
- Los resultados de los ensayos se aplican a la muestra cómo se recibió y no se deben usar como una declaración de conformidad con una especificación o normas de productos de la entidad que lo produce.
- El laboratorio no es responsable de la información que ha sido identificada como suministrada por el cliente.
- El muestreo está fuera del alcance de acreditación.
- Los resultados se relacionan solamente con los ítems sometidos a ensayo.
- Este laboratorio está acreditado de acuerdo con la norma internacional reconocida ISO / IEC 17025. Esta acreditación demuestra la competencia técnica para un alcance definido y el funcionamiento de un sistema de gestión de calidad de laboratorio.

**INFORME DE ENSAYO
IE-2023-2023**

1. DATOS DEL CLIENTE

1.1 Cliente : ESTELA SALVADOR SIMON
1.2 RUC o DNI : 76633906
1.3 Dirección : No Precisa

2. DATOS DE LA MUESTRA

2.1 Producto : SUELOS
2.2 Muestreado por : CLIENTE (c)
2.3 Número de Muestras : 01
2.4 Fecha de Recepción : 2023-11-27
2.5 Periodo de Ensayo : 2023-11-28 al 2023-12-04
2.6 Fecha de Emisión : 2023-11-07
2.7 Fecha y Hora de Muestreo : 2023-10-14 / 12:30 PM
2.8 N° de cotización : COT-134280-SL23

3. ENSAYO SOLICITADO - METODOLOGÍA UTILIZADA

ENSAYO	MÉTODO
Metales Pesados: Arsénico, Plomo, Mercurio, Cromo, Cadmio	EPA METHOD 3050B, Rev. 2, 1996 / EPA METHOD 200.7, Rev. 4.4, 1994. Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Solis Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS OBTENIDOS

Descripción de Muestra: M8 (c)



DIEGO ROMANO VERGARAY VERRIGO
QUÍMICO
CQP. 1337

INFORME DE ENSAYO IE-2023-2023**Tabla N°1: RESULTADOS OBTENIDOS**

Código de Laboratorio	Parámetro	Unidad	LCM	Resultados
S-3034	Arsénico, As	mg/Kg	2.67	<2.67
	Cadmio, Cd	mg/Kg	0.33	<0.33
	Cromo, Cr	mg/Kg	1.33	24.04
	Mercurio, Hg	mg/Kg	0.50	<0.50
	Plomo, Pb	mg/Kg	3.33	29.11

Leyenda

LCM: Límite de Cuantificación de Método.

(C) Información suministrada por el cliente.

FIN DE DOCUMENTO

- Sin la aprobación del laboratorio Sistema de Servicios y Análisis Químicos S.A.C. no se debe reproducir el informe de ensayo parcial, excepto cuando se reproduce en su totalidad.
- Los resultados de los ensayos se aplican a la muestra cómo se recibió y no se deben usar como una declaración de conformidad con una especificación o normas de productos de la entidad que lo produce.
- El laboratorio no es responsable de la información que ha sido identificada como suministrada por el cliente.
- El muestreo está fuera del alcance de acreditación.
- Los resultados se relacionan solamente con los ítems sometidos a ensayo.
- Este laboratorio está acreditado de acuerdo con la norma internacional reconocida ISO / IEC 17025. Esta acreditación demuestra la competencia técnica para un alcance definido y el funcionamiento de un sistema de gestión de calidad de laboratorio.

**INFORME DE ENSAYO
IE-2023-2024****1. DATOS DEL CLIENTE**

1.1 Cliente : ESTELA SALVADOR SIMON
1.2 RUC o DNI : 76633906
1.3 Dirección : No Precisa

2. DATOS DE LA MUESTRA

2.1 Producto : SUELOS
2.2 Muestreado por : CLIENTE (C)
2.3 Número de Muestras : 01
2.4 Fecha de Recepción : 2023-11-27
2.5 Periodo de Ensayo : 2023-11-28 al 2023-12-04
2.6 Fecha de Emisión : 2023-11-07
2.7 Fecha y Hora de Muestreo : 2023-10-14 / 1:00 PM
2.8 N° de cotización : COT-134280-SL23

3. ENSAYO SOLICITADO - METODOLOGÍA UTILIZADA

ENSAYO	MÉTODO
Metales Pesados: Arsénico, Plomo, Mercurio, Cromo, Cadmio	EPA METHOD 3050B, Rev. 2, 1996 / EPA METHOD 200.7, Rev. 4.4, 1994. Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry

4. RESULTADOS**4.1. RESULTADOS OBTENIDOS**

Descripción de Muestra: M9 (C)


DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIGO
QUÍMICO
CQP. 1337

Tabla N°1: RESULTADOS OBTENIDOS

Código de Laboratorio	Parámetro	Unidad	LCM	Resultados
S-3035	Arsénico, As	mg/Kg	2.67	<2.67
	Cadmio, Cd	mg/Kg	0.33	<0.33
	Cromo, Cr	mg/Kg	1.33	26.10
	Mercurio, Hg	mg/Kg	0.50	<0.50
	Plomo, Pb	mg/Kg	3.33	28.95

Leyenda

LCM: Límite de Cuantificación de Método.

(c) Información suministrada por el cliente.

FIN DE DOCUMENTO

- Sin la aprobación del laboratorio Sistema de Servicios y Análisis Químicos S.A.C. no se debe reproducir el informe de ensayo parcial, excepto cuando se reproduce en su totalidad.
- Los resultados de los ensayos se aplican a la muestra cómo se recibió y no se deben usar como una declaración de conformidad con una especificación o normas de productos de la entidad que lo produce.
- El laboratorio no es responsable de la información que ha sido identificada como suministrada por el cliente.
- El muestreo está fuera del alcance de acreditación.
- Los resultados se relacionan solamente con los ítems sometidos a ensayo.
- Este laboratorio está acreditado de acuerdo con la norma internacional reconocida ISO / IEC 17025. Esta acreditación demuestra la competencia técnica para un alcance definido y el funcionamiento de un sistema de gestión de calidad de laboratorio.

ANEXO 11

Panel Fotográfico

