

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO AMBIENTE.



TEMA:

Identificación molecular de rizobacterias inmovilizadoras de Pb asociadas al rizoplasma de papayita de soña (*Momordica charantia*) y tártago (*Euphorbia lathyris*)

TESIS para optar el título profesional de ingeniero forestal y medio ambiente

AUTOR:

Bach. Salvatierra Lloclla, Anderson Joel.

Tumbes-Perú

2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO AMBIENTE



TEMA:

Identificación molecular de rizobacterias inmovilizadoras de Pb asociadas al rizoplaneo de papayita de soña (*Momordica charantia*) y tártago (*Euphorbia lathyris*)

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Miguel Antonio Puestas Chully (Presidente).

Dr. Gerardo Juan Cruz Cerro (Secretario).

M.sc Jhon Rimaycuna Ramirez (Vocal).

TUMBES_PERÚ
2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL Y MEDIO AMBIENTE



TÍTULO:

Identificación molecular de rizobacterias inmobilizadoras de pb asociadas al rizoplano de papayita de soña (*Momordica charantia*) y tartago (*Euphorbia lathyris*).

Los suscritos declaramos que la tesis es de originalidad en su contenido y forma:

Bach. Salvatierra Lloclla, Anderson Joel (Ejecutor).

M.Sc. Rimaycuna Ramirez, John Henry (Asesor).

M.Sc. Suarez Peña, Erick Antonio (Co-asesor).

TUMBES_PERÚ

2025



ANEXO VIII

"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

En Tumbes, a los dieciocho días del mes de noviembre de dos mil veinticinco, siendo las ...11... horas, con ...00... minutos (Once), de la ...manana..., de forma presencial en la Aula F1 de la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente-Ciudad Universitaria. se reunieron el Jurado Calificador, designado por Resolución N° 0020-2024/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D., **Dr. Miguel Antonio Puestas Chully** (Presidente), **Dr. Gerardo Juan Francisco Cruz Cerro** (Secretario), **Mg. John Henry Rimaycuna Ramírez** (Vocal), reconociendo en la misma resolución además, al **Mg. John Henry Rimaycuna Ramírez**, como **Asesor**, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, "**Identificación molecular de rizobacterias inmovilizadoras de Pb asociadas al rizoplaneo de papayita de soña (*Momordica Charantia*) y tártago (*Euphorbia lathyris*)**", para optar el Título Profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, presentado por el **Bach. Anderson Joel Salvatierra Lloclla**, Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 75 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a al: **Bach. Anderson Joel Salvatierra Lloclla**; *Aprobada* por *Brendo* *maximidad*, con el calificativo

Se hace conocer al sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda *APTO* para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de Ingeniero Forestal y Medio Ambiente, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las *12* horas y *35* minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, *18 de Noviembre 2025*

DR. Miguel Antonio Puestas Chully DNI N.º <i>02660522</i> CODIGO ORCID <i>0000-0003-1979-9572</i> Presidente	Dr. Gerardo Juan Francisco Cruz Cerro DNI N.º <i>80661595</i> CODIGO ORCID <i>0000-0001-6096-0183</i> Secretario
Mg. John Henry Rimaycuna Ramirez DNI N.º <i>70047386</i> CODIGO ORCID <i>0000-0002-2767-9733</i> Vocal	

7 %
INDICE DE SIMILITUD

6 %
FUENTES DE INTERNET

1 %
PUBLICACIONES

2 %
TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1 **4.1** www.coursehero.com **2** %
Fuente de Internet

2 **4.2** epistemus.unison.mx **1** %
Fuente de Internet

3 **4.3** doaj.org **1** %
Fuente de Internet

4 **4.4** microbiologynote.com **1** %
Fuente de Internet

5 **4.5** www.scielo.org.mx **1** %
Fuente de Internet

6 **4.6** www.daigangbio.cn **<1** %
Fuente de Internet

7 **4.7** doczz.es **<1** %
Fuente de Internet

8 **4.8** Submitted to Universidad San Francisco de Quito **<1** %
Trabajo del estudiante

9 **4.9** "Proceedings of the 4th Biotechnology World Symposium", Mexican Journal of Biotechnology, 2024 **<1** %
Publicación

10 **4.10** cdigital.uv.mx **<1** %
Fuente de Internet

11 **4.11** Submitted to Queensland University of Technology **<1** %
Trabajo del estudiante

12 **4.12** m.moam.info **<1** %
Fuente de Internet

13 **4.13** vocero.uach.mx **<1** %
Fuente de Internet

4.14 cybertesis.unmsm.edu.pe



Mg. John Rimaycuna Ramirez
Orcid: 0000-0002-2767-9733

14

Fuente de Internet

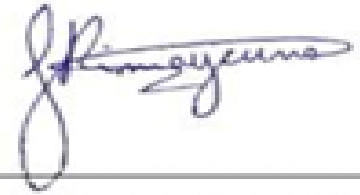
<1%

15

4.15 do
cta.ucm.es

Fuente de Internet

<1%



Mg. John Rimaycuna Ramirez
Orcid: 0000-0002-2767-9733

Excluir citas Activo Excluir bibliografía Activo
Excluir coincidencias < 15 words

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Tumbes, por ser mi alma mater profesional y por permitirme el uso de sus ambientes y el análisis de muestras.

Al Ing. Suarez Peña Erick e Ing. Rimaycuna Ramírez John por su apoyo durante el desarrollo de tesis, en la parte técnica de laboratorio así como la facilitación de bibliografía.

A Percy Ortiz Villegas, Armando Gonzales Huaman y Oswaldo Montalvan Flores por su apoyo durante la recolección de muestras .

DEDICATORIA:

Dedico este proyecto a Dios y a mis padres Eddy Y Martha , por ser pilar fundamental en mi vida, por haberme traído a este mundo, inculcarme buenos valores y darme la mejor educación y a mi hermana, por siempre estar para mí, sabes que este logro también es tuyo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. REVISION DE LITERATURA.....	11
2.1 El Plomo (Pb)	13
2.2 Origen de contaminación por Pb y Base legal LMP:.....	13
2.3 Repercusión y fuentes contaminantes de Pb.....	14
2.4 Toxicidad del Plomo:.....	14
2.4.1. Translocación del plomo en las plantas.....	15
2.5 Actividad Rizobacteriana:.....	15
2.6 Plantas Herbáceas.....	16
2.6.1 Tártago (<i>Euphorbia Lathyris</i>).....	17
2.6.2 Papayita de Soña (<i>Momordica Charantia</i>).....	17
2.6.3 Identificación y metodología de agentes remediadores.....	18
2.7 Técnicas biorremediadores.....	18
2.8 Fitorremediación.....	17
2.9 Fitoextracción.....	18
2.10 Biorremediación.....	18
2.11 Identificación molecular.....	19
3. MATERIALES Y METODOS	25
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
5. CONCLUSIONES.....	49
6. RECOMENDACIONES	50
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	49

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Puntos de muestreo.....	25
Tabla 2. Descripción de los códigos utilizados durante la recolección de muestra....	30
Tabla 3. Primers empleados para la amplificación del gen 16S ARNr en aislamientos bacterianos.....	31
Tabla 4. Reactivos utilizados para la reacción de amplificación del gen 16S ARNr....	35
Tabla 5. Los parámetros que se evaluaron en la caracterización morfológica de las bacterias aisladas de rizosfera de <i>Momordica charantia</i> y <i>euphoria latirys</i> . Utilizando el metodo TSA.....	30
Tabla 6. Descripción morfológica bacteriana: Mediana(ME), Irregular (IR), Pequeña (PEQ), grande (GR). bacteriana: mediana (ME), pequeña (PE), irregular (IR), elevada (EL), plana (PL), cocobacilos (CB), bacilos(B), positivo(+), morado(MOR) y rojo(ROJ).....	36
Tabla 7. Identificación molecular de la rizosfera de <i>E.lathirys</i> y <i>M.charantia</i> mediante secuenciación.....	37
Tabla 8. Funciones de bacterias del genero <i>serratia</i> y <i>pectobacterium</i> en el contexto vegetal y del suelo.....	38
Tabla 9 .crecimiento de bacterias en concentraciones de <i>Pb</i> desde 0.5 mg/l – 80 mg/l.....	44

INDICE DE FIGURAS

Fig 1. Esquema de mecanismos de remoción de metales por bacterias según López Hernández & Morales Hernández, (2022).....	25
Fig 2. Mapa de ubicación de toma de muestras.	Error! Bookmark not defined.
Fig 3. Recolección de rizosfera en la orilla del río en tres sectores:.....	26
Fig 4. Aislamiento de colonias de bacterias a partir de rizosfera de tartago y papayita de soña.	27
Fig 5. Materiales utilizados durante la caracterización morfológica.....	29
Fig 6. Extracción de ADN bacteriano.	31
Fig 7. Muestras utilizadas durante la PCR.	32
Fig 8. Conteo del crecimiento de bacterias en pruebas MIC.	34
Fig 9. Gráfico de crecimiento de rizobacterias en pruebas MIC.....	31
Fig 10. 23 cepas utilizadas en la investigación 11 de tartago y 12 de papayita soña.	31

Fig 11. <i>Tamaño de las bacterias durante su caracterización morfológica.</i>	33
Fig 12 <i>Recolección de muestras de rizosfera Barrio San jose.</i>	61
Fig 13 <i>Cámara de flujo para trabajar el aislamiento de bacterias.</i>	61
Fig 14 <i>Placas de vidrio para la siembra y cultivo de bacterias.</i>	61
Fig 15 <i>Reactivos para realizar tinción Gram.</i>	61
Fig 16 <i>Medio TSA, para el crecimiento de bacterias.</i>	61
Fig 17 <i>Tinción gram A) Bacilos ; B) Cocos.</i>	62
Fig 18 <i>Crecimiento de rizobacterias A) Euphorbia lathyris ; B) Momordica charantia.</i> ..	62
Fig 19 <i>Crecimiento de bacterias de rizosfera.</i>	62
Fig 20 <i>Extracción de ADN de rizobacterias.</i>	63
Fig 21 <i>Área de electroforesis.</i>	63
Fig 22 <i>Preparación de bacterias para Secuenciamiento.</i>	63
Fig 23 <i>Crecimiento de rizobacterias pruebas MIC.</i>	64

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO 01. <i>Porcentaje de identidad (%).</i>	39
GRAFICO 02. <i>Comparación de cobertura e identidad.</i>	40
GRAFICO 03. <i>Distribución de especies identificadas en la rizosfera.</i>	41

RESUMEN

La contaminación del suelo por metales pesados en la cuenca del río Tumbes constituye una problemática ambiental de relevancia, específicamente por la acumulación en los sedimentos ribereños. En este contexto, el presente trabajo de investigación, se llevo a cabo en la margen izquierda del río Tumbes con la finalidad de aislar y caracterizar molecularmente bacterias tolerantes al Plomo (Pb). Se recolectaron muestras de rizosfera en las zonas de San Jose, Pampas de Hospital y San Juan de la virgen. Durante el aislamiento bacteriano se utilizo el medio de cultivo agar tripton-soja (TSA) suplementado con concentraciones iniciales de Plomo al 0,5 y 2 mg/l. Como resultado se aislaron 23 cepas bacterianas las cuales fueron caracterizadas molecularmente mediante extracción de ADN y amplificación del gen 16S ARNr. la electroforesis permitió ver el producto amplificado de las cepas mencionadas de las cuales 12 fueron identificadas satisfactoriamente a nivel molecular. Entre estas destacaron 3 géneros bacterianos tales como *Serratia Surfactantfaciens* (8), *Serratia marcenscens* (2), *Pectobacterium zantedeschiae* (1). Finalmente , en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) evidenciaron una notable tolerancia al plomo en la mayoría de las cepas evaluadas, llegando a tolerar concentraciones de 60 mg/l de Pb, especialmente en aquellas pertenecientes al género *Serratia Surfactantfaciens*. Este resultado resalta el potencial de ciertas bacterias rizaosfericas como agentes prometedores en estrategias de biorremediación para la recuperación de suelos por metales pesados.

Palabras clave: Bacterias , Plomo (Pb) , biorremediación, caracterización molecular y aislamiento bacteriano.

ABSTRACT

Soil contamination by heavy metals in the Tumbes River basin is a significant environmental problem, specifically due to their accumulation in riparian sediments. In this context, this research was carried out on the left bank of the Tumbes River to isolate and molecularly characterize lead-tolerant bacteria (Pb). Rhizosphere samples were collected in the areas of San Jose, Pampas de Hospital, and San Juan de la Virgen. During bacterial isolation, tryptone-soy agar (TSA) was used, supplemented with initial lead concentrations of 0.5 and 2 mg/l. As a result, 23 bacterial strains were isolated and molecularly characterized by DNA extraction and 16S rRNA gene amplification. Electrophoresis allowed the amplified product of the aforementioned strains to be seen, of which 12 were satisfactorily identified at the molecular level. Among these, three bacterial genera stood out: *Serratia Surfactantfaciens* (8), *Serratia marcenscens* (2), *Pectobacterium zantedeschiae* (1). Finally, the minimum inhibitory concentration (MIC) assessment showed a notable tolerance to lead in most of the strains tested, reaching concentrations of 60 mg/l of Pb, especially in those belonging to the *Serratia Surfactantfaciens* genus. This result highlights the potential of certain rhizospheric bacteria as promising agents in bioremediation strategies for soil remediation of heavy metals.

Keywords: Bacteria, Lead (Pb), bioremediation, molecular characterization and bacterial isolation.

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del suelo por metales pesados es un problema ambiental grave que afecta la salud humana y la calidad del medio ambiente. (Peragallo Barrios,. 2019). Esta situación representa un gran peligro por la toxicidad de metales pesados (MPs) tales como, el Cd (cadmio), Cu (cobre), Cr (cromo), Co (cobalto), Ni (Níquel) y Pb (plomo) (Salas et al., 2019). La presencia de MPs en el suelo, ha provocado un gran nivel de repercusión en el ecosistema, lo que afecta directamente en las poblaciones microbianas presentes en el biotopo, específicamente en bacterias y hongos, e indirectamente ocasiona un gran déficit en la absorción y nutrición de las plantas (Azcona et al., 2015).

El plomo, es un metal natural que se encuentra en la superficie terrestre (Azcona et al., 2015). En el suelo se presenta principalmente en forma de Pb^{2+} , formando compuestos insolubles tales como el $Pb(OH)^2$, $PbCO^3$, PbS y $PbSO^4$ (Llanos Zevallos et al., 2024). Así mismo, las actividades antropogénicas han contribuido significativamente al aumento de las concentraciones en algunos entornos (Peragallo Barrios,. 2019). La minería del plomo, los procesos industriales que utilizan el plomo como materia prima, la combustión de carbón y petróleo, y otros procesos contribuyen a la liberación de este metal al medio ambiente (Fonseca-Vera, 2021).

Aunque no es un metal esencial para los vegetales, su presencia en el suelo lo hace accesible para su absorción por las plantas (Peragallo Barrios, 2019). Algunos signos generales de toxicidad, aunque no exactos, de este metal suelen ser la aparición de hojas más pequeñas y menos desarrolladas, que se vuelven necróticas de color amarillo y rojo, mientras que las raíces pueden tornarse negras (Londoño Franco et al., 2016).

En la actualidad, una de las aproximaciones más prometedoras es la integración del uso de plantas herbáceas en combinación con microorganismos para reducir la biodisponibilidad de este metal pesado, destacando la biorremediación como una técnica eficaz a mediano y largo plazo (Suay Matallana, 2023). Entre estas estrategias, toma relevancia la asociación rizosférica entre especies vegetales y hongos, que favorece procesos de inmovilización, absorción o transformación

del plomo. No obstante, aun persisten vacíos en el conocimiento sobre los compuestos secundarios involucrados y las rutas de absorción del metal.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 El Plomo (Pb)

El plomo es un metal relativamente abundante en la corteza terrestre, aunque nunca en su estado natural (Salas et al., 2019). Se caracteriza por ser denso de color gris azulado que al endurecerse adquiere un color gris opaco (Salas-Marcial et al., 2019). Este metal tiene efectos nocivos en las plantas (Akhtar-E-Ekram et al., 2019). Es un contaminante altamente tóxico que ocasiona impactos negativos significativos, este se puede acumular en diferentes espacios naturales y en los diferentes niveles de la cadena trófica; además se ha determinado que este metal puede causar lesiones oxidativas en el ADN (Fonseca-Vera, 2021). El exponerse a este metal puede causar problemas en la salud ya que afecta los órganos y con ello lleva a enfermedades difíciles de tratar, en primer lugar, se ven afectados los niños por su capacidad de absorción (A Poma, 2013).

2.1.1 Origen de contaminación por Pb y Base legal LMP

Muchas de las actividades humanas tienen consecuencias negativas sobre los recursos naturales de nuestro planeta generando compuestos contaminantes que alteran la estructura y función del ambiente (Gamero Esparza, 2003). Actividades como la minería, los procesos industriales que utilizan el plomo como materia prima, la combustión de carbón y petróleo, y otros procesos contribuyen a la liberación de este metal al medio ambiente (Caravanos et al., 2014). También se le considera un metal no esencial para los vegetales; puesto que se encuentra de manera natural en el suelo, está disponible para las plantas (Gamero Esparza., 2003).

Los Límites Máximos Permisibles (LMP) permiten identificar el grado de contaminación que presenta un contaminante en el suelo, así como su nivel de toxicidad. Para ello, el Ministerio del Ambiente regula la concentración de metales mediante la elaboración de parámetros orientados a reducir la acumulación de dichos contaminantes. En este contexto, se establecen los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), los cuales buscan disminuir o minimizar la presencia de elementos tóxicos en

el ambiente (Velásquez., 2014). En el Perú, el Decreto Supremo N.º 011-2017-MINAM establece que, para el caso del plomo, el valor máximo permitido en suelos es de 96.01 mg/kg. Este valor es considerado uno de los más relevantes dentro de los estándares de calidad ambiental del suelo (Contreras-De la Cruz et al., 2023).

2.1.2 Repercusión y fuentes contaminantes de Pb

El plomo es un elemento altamente tóxico debido a que se encuentra presente a lo largo de todo el ecosistema terrestre, el metal se libera en el medio a través de actividades naturales y antropogénicas, en comparación las actividades naturales representan el 30 % ,se puede encontrar en diversos minerales, siendo los más comunes como la galena (sulfuro de plomo), la cerusita (carbonato de plomo) y la anglesita (sulfato de plomo) entre otros (Fernández Munaylla., 2018). Estos minerales se forman en depósitos de minerales metálicos y se distribuyen en diferentes regiones del mundo (A Poma., 2013). En el caso de las antropogénicas representa el 70% de la liberación del plomo y las principales fuentes son: *“minería, humos industriales, trabajos metalúrgicos, combustión fósil, y mal procesamiento de minerales y aguas residuales”* (Rodríguez., 2021).

2.1.3 Toxicidad del Plomo

Según la organización mundial de la salud, en la vida humana y los vegetales, el plomo no tiene ninguna función biológica esencial para el ser vivo, todo lo contrario, en las personas la exposición o concentración del metal en el organismo puede reducir el índice de vida adulta originando una supervivencia solo de 10 a 30 años de edad (OMS, 2020). Puede provocar daños al riñón, hígado, riesgos de cáncer, anemia, asma, cansancio, cólico abdominal, dificultad para respirar , dolor de cabeza y vómito (OMS, 2020). Consigo puede contraer enfermedades a las mujeres embarazadas, problemas renales, y perjudicar una salud dejando secuelas existenciales (Llanos Zevallos et al., 2024).

La absorción de Plomo en forma aguda u oral, puede causar una erosión gastrointestinal, hepático y si los niveles superan los LMP, pueden dejar a una persona en coma debido a la contaminación presente en el cuerpo

(Hernández-Gómez et al., 2020). También causa un efecto depresivo en los parámetros de las sustancias dentro del organismo como; noradrenalina, serotonina y acetilcolina (CALDER, 2023). Reduce el crecimiento y desarrollo, reducción fotosintética, infiere en la entrada y transporte de nutrientes y provoca estrés oxidativo en el organismo. Es por ello que la contaminación reduce el poder de supervivencia e inhibe la reproducción de los seres vivos contaminados (Fonseca-Vera, 2021).

2.1.4 Translocación del plomo en las plantas

El plomo ingresa a la estructura vegetal al ser absorbido por raíces, ya que al estar presente en el suelo está disponible en la absorción por el sistema radicular (Hernández-Gómez et al., 2020). En cuanto a la epidermis es la primera zona donde se capta al ion y puede ingresar a ella, los pelos radicales son la zona más activa, cuando pasa la primera capa epidérmica el Pb puede ser absorbido por la raíz (Gamero Esparza., 2003). También sus partículas finas permanecen suspendidas en el aire esto producto a las emisiones a la atmosfera, generando asi que puedan ingresar al suelo y al agua a través de la lluvia ácida (Rojas Padilla, Chaparro Encinas, et al., 2020).

2.2 Actividad Rizo bacteriana

Las rizobacterias son bacterias que habitan en la rizosfera, que es una capa de suelo unida a las raíces que se extiende varios milímetros más allá de la superficie del sistema radicular (Castillo-Ortega et al., 2022). Este entorno se caracteriza por una interacción distinta y dinámica de procesos biogeoquímicos entre raíces de las plantas y los microorganismos del suelo, que está influenciada principalmente por los exudados de las raíces (Pascarella et al., 2020) .

Además, posee una gran cantidad de microorganismos , siendo las mas destacadas *Pseudonomas fluorencens* , *Bacillus subtilis* y *Azospirillum brasilenses*, las cuales no solo estimulan el desarrollo de las plantas mediante la producción de fitohormonas o la solubilización de nutrientes sino que también actúan como agentes biocontroladores frente a fitopatógenos (Benavente Fernández et al., 2022). Los costos crecientes

y el éxito limitado de la quimioterapia han fomentado el desarrollo de nuevos métodos. Sin embargo, la fitorremediación representa una alternativa única y de bajo costo para remediar ambientes afectados por contaminantes naturales y antropogénicos, utilizando hongos y rizo bacterias (Moreno Salazar et al., 2019). Esta tecnología se hace más eficiente modificando genes que mejoran la adaptabilidad de las plantas en el medio contaminados (Suay Matallana., 2023).

2.3 Plantas Herbáceas

Las plantas que viven en un biotopo bajo condiciones naturales, especialmente en forma de malezas de las especies indicadas, estas son las especies con mayor capacidad de reproducción y adaptación a condiciones adversas (Fonseca-Vera., 2021). La mayoría de las hierbas son anuales, crecen a partir de semillas al comienzo de la buena temporada y dejan solo semillas nuevas en el suelo al final de la temporada. También hay pastos perennes que crecen del tallo o se encuentran en el suelo (Akhtar-E-Ekram et al., 2019). Los órganos subterráneos involucrados son los rizomas (tallos horizontales) y los bulbos (Daza Torres et al., 2014). La mayoría de las plantas bienales forman una roseta de hojas adheridas al suelo en su primer año, donde no dan frutos, y un largo tallo floral, el pedúnculo, en el segundo año (Londoño Franco et al., 2016).

La actividad enzimática de las plantas nativas, produce un efecto biorremediador de suelos contaminados, la acumulación que presenta beneficia a las poblaciones de rodales que interactúan a su alrededor, son de gran importancia siempre y cuando exista un control de poda sobre el ecosistema donde se sitúen, para que no provoquen una aniquilación fotosintética de los rodales juveniles o plántulas en estado de crecimiento, tienen una gran supervivencia frente a suelos con abundante presencia de metales pesados debido a que en su estructura descomponen los compuestos y su gran adaptación los hace tolerantes dentro del ecosistema, por consiguiente su rápido nivel de competitividad territorial genera que absorben en mayor cantidad los elementos tóxicos (Barragan Monrroy et al., 2023).

2.3.1 Tártago (*Euphorbia Lathyris*):

Esta planta herbácea pertenece a la familia de las euforbiáceas, su tallo puede tener hasta 2 cm de diámetro. Sus hojas carecen de peciolo, presentan textura lisa y son de color verde oscuro (Daza Torres et al., 2014). La nervadura central, más ligera, tiene más estructura (Rasche Alvarez et al., 2015). Las hojas son largas y delgadas y pueden alcanzar una longitud de 15 cm; Hacia la corona, las hojas se acortan y adquieren una forma triangular. Las flores son pequeñas, verdes o amarillas, sin pétalos. Las frutas maduras son de color marrón o gris y se asemejan a los ácaros (Alcalá de Marcano et al., 2005). También se le llama "*mol plant*" en inglés y se vende en tiendas de jardinería como planta ornamental con un componente activo (Tambussi, 2014).

2.3.2 Papayita de Soña (*Momordica Charantia*).

Es una especie herbácea de poca viabilidad con características trepadoras, de tallo muy largo, que puede ser largo, cubierto de pelos, con hojas alternas y delgadas, que son de 7 lóbulos con pétalos aserrados y pelos largos, sus frutos son ovoides (Perumal et al., 2021) La acción de *Momordica Charantia* depende de la comunidad medicinal, la mayoría del significado de su poder curativo no se ha encontrado, existen pocos estudios que confirmen su capacidad para eliminar sustancias tóxicas (Singh et al., 2023).

Se pretende potenciar el trabajo de las malezas en el campo de la fitorremediación con la ayuda de las plantas naturales, esto se debe a la capacidad que tienen las especies herbáceas de absorber y acumular las sustancias más nocivas que obtienen mucho dinero en sus raíces, tallos, hojas y frutos, y dependiendo de esto, se necesita más investigación para aumentar la información de las plantas medicinales y las organizaciones que existen en la rizosfera (Jia et al., 2017).

2.4 Identificación y metodología de agentes remediadores

Las técnicas de restricción de metales pesados a través de bacterias, microalgas y hongos tienen los procesos físicos y químicos convencionales mencionados anteriormente (Montenegro et al., 2019). La eficacia de estos agentes biorremediadores depende en gran medida de sus capacidades metabólicas específicas, por lo cual es fundamental conocer e identificar sus mecanismos de tolerancia, entre las metodologías más empleadas destacan el aislamiento en medios suplementados con metales pesados lo que permite seleccionar cepas tolerantes; la identificación molecular mediante amplificación del gen 16 ARNr (para bacterias), ITS (para hongos) utilizando PCR y secuenciación; ensayos de concentración mínima inhibitoria (MIC) para establecer el umbral de tolerancia frente a diferentes concentraciones de metales y análisis espectrofotométricos o por espectroscopia de absorción atómica (AAS), que permiten cuantificar la remoción de metales pesados por parte de los microorganismos (Díaz-López et al., 2020).

Actualmente, los métodos más comunes son el uso de plantas herbáceas para remediar metales pesados, esto permite la eliminación de los desechos almacenados en la raíz, esto se denomina un tipo de tecnología limpia, se encontró que los organismos en su estado natural y expuestos a un ambiente de campo altamente tóxico pueden volverse tolerantes, brindando el mejor desempeño en suelos contaminados. (Perumal et al., 2021).

2.5 Técnicas remediadoras

En estudios relacionados sobre técnicas biorremediadoras (Alonso Fernández et al., 2023). Actualmente sobresalen, entre los más comunes son el uso de plantas bacilares para recolectar metales pesados, esto permite la eliminación de los desechos almacenados en la raíz, esto se denomina un tipo de tecnología limpia, que proporciona menos dinero y descarga menos contaminación, se

encontró que los organismos en su estado natural y expuestos a un ambiente de campo altamente tóxico pueden volverse tolerantes, brindando el mejor desempeño en suelos contaminados (Ocampo Hernández., 2021).

Este contexto, lo nuevo de este proyecto de investigación que nos permitirá estudiar el gran potencial remediador que tienen los agentes tolerantes, el plomo y a su vez la identificación molecular evaluara las condiciones morfológicas y evolución frente a diversas concentraciones del contaminante, adquiriendo una nueva herramienta para lidiar con los suelos contaminados por Pb (Rodríguez., 2021).

2.5.1 Fitorremediación

La fitorremediación es un proceso conjunto que consiste en el uso de especies vegetales para remediar suelos, agua, sedimentos y aire (Montenegro et al., 2019). Esto se debe en gran manera al ambiente contaminado por desechos orgánicos y metales pesados (Mentaberry., 2011). Esta tecnología es más efectiva a través de la manipulación genética, mejorando así la capacidad de degradación de contaminantes orgánicos de metales pesados, siendo esta una de las tecnologías de gran alternativa, más accesible y amigable con el ambiente (Rodríguez-Gonzales et al., 2022).

Su metodología se hace muy eficaz debido a que se basa en observar el crecimiento de las plantas a mediano plazo (Núñez et al., 2018). El metal ingresa a las plantas al ser absorbido por raíces, ya que al estar presente en el suelo es captado por el sistema radicular (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016). Es por ello que se ha llegado a concretar que las plantas en su estado natural y expuestas al medio ambiente en un terreno con alto nivel tóxico, pueden resistir un nivel de tolerancia muy alto, provocando ser la mejor eficacia con los suelos contaminados (Tambussi, 2014).

2.5.2 Fitoextracción

La fitoextracción es una tecnología de remediación rentable ,que se basa en utilizar plantas para eliminar los metales de los suelos contaminados (Huaranga Moreno et al., 2021). La absorción en los vegetales se realiza principalmente a través de los pelos radiculares y la pared celular donde son almacenados debido a la carga iónica negativa que confieren los grupos carboxilo, parte estructural de glucósidos, proteínas y carbohidratos (Huaranga Moreno et al., 2021). Estudios sostienen que la absorción de plomo, una vez absorbido por las raíces de las plantas, causa efectos fitotóxicos según su concentración y naturaleza química (Mentaberry, 2011; Montenegro et al., 2019; Suárez Contreras & Peñaranda Figueredo, 2021).

2.5.3 Biorremediación

La biorremediación es un proceso biotecnológico que utiliza microorganismos, hongos, plantas o sus enzimas derivadas para devolver un ambiente alterado por contaminantes a su estado natural (Rosero-Garcia, 2020). Este método, que utiliza las capacidades catabólicas de los organismos vivos, principalmente microorganismos, se conoce como biorremediación (Cota-Ruiz et al., 2018). Este es uno de los métodos más accesibles debido a su bajo costo, a ser amigable con el medio ambiente y a la interesante relación costo/beneficio que presenta para la recuperación de ecosistemas, aumentando significativamente la factibilidad de desarrollarla (Alonso Fernández et al., 2023).

Los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con metales pesados (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez.,2016). Para que los microorganismos puedan degradar eficientemente el compuesto y degradarlo, es necesario que se cumplan ciertas condiciones como la temperatura debe ser la adecuada, agua suficiente (González Rojas., 2011). Debe existir una cantidad adecuada de nutrientes, cantidad de oxígeno suficiente (para

microorganismos aerobios) (Urrutia.,2019). Estas condiciones permiten que los microorganismos crezcan y se multipliquen y entonces requieren mayor cantidad de sustancias químicas para comer y la biodegradación es más eficiente. Si estas condiciones no se cumplen, los microorganismos no crecen lo suficiente y mueren (Rosero-Garcia., 2020).

2.5.4 Identificación Molecular

Los métodos de identificación molecular en laboratorio se basa en realizar pruebas bioquímicas que permiten determinar características genómicas de las bacterias (Hernández-Gómez et al., 2020). Estas pruebas son técnicas rápidas ya que se basa en demostrar, si el microorganismo es capaz de resistir concentraciones y en la degradación de compuestos (Llanos Zevallos et al., 2024).

A través de este proceso , mediante los genes de los microorganismos y plantas, se hace posible identificar características deseable para la selección de variedades más prometedoras eficientes que ayuden a reducir las concentraciones de metales pesados, en el medio donde se disponen, por lo que hoy en dia hace que sea uno de las tecnologías mas aceptables y accesibles en la biotecnología (Garzón et al., 2017). Para esta investigación se considero trabajar con el medio TSA (agar tripticasa soya) debido a que este medio de cultivo favorece el crecimiento de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, principalmente como medio de crecimiento inicial para observar la morfología de las colonias y obtener cultivos puros de microorganismos (Barragan Monrroy et al., 2023).

Este medio apoya el crecimiento de un amplio espectro de microorganismos, tanto exigentes como no exigentes (Rojas Padilla, Abraham, et al., 2020) comúnmente es utilizado para el aislamiento de cultivos puros a partir de muestras mixtas, lo que

permite a los investigadores obtener cepas microbianas individuales para su posterior estudio, lo que permite su aislamiento e identificación ,seguidamente en placas petri se colocará el medio de cultivo con las concentraciones de plomo (Pb) (2 mg/L y 0.5 mg/L), dentro de estos índices que permiten un mejor un control preciso de la concentración de determinadas sustancias químicas (Cota-Ruiz et al., 2018).

2.6 Mecanismos de remoción de metales por bacterias.

2.6.1 La biosorción

puede ser clasificada con base en el metabolismo, como dependiente o independiente del mismo (Maco-Garcia & Sandoval Zamora, 2017). El dependiente del metabolismo consiste en la acumulación intracelular de metales a través de la membrana celular y solo es llevada a cabo por células vivas (Hernández-Gómez et al., 2020).

2.6.2 La bioacumulación

Es el proceso en el cual los materiales tóxicos atraviesan las membranas celulares y se acumulan en el interior, por lo cual éste es considerado un proceso exclusivo de células vivas (Sánchez Gómez et al., 2017). Mientras que, la biosorción independiente del metabolismo, es la adsorción de metales que ocurre por la interacción fisicoquímica entre los grupos funcionales en la superficie de las bacterias y los iones metálicos (Llanos Zevallos et al., 2024). La unión de los iones metálicos a la superficie celular de una bacteria implica varios mecanismos, como interacciones fisicoquímicas, tipo electrostática o de Van der Waals o interacción química como el desplazamiento de cationes metálicos adheridos por intercambio iónico, formación de complejos, difusión, superficie de adsorción o por precipitación (Maco-Garcia & Sandoval Zamora, 2017).

Los metales se pueden precipitar en el interior de las células, donde se producen partículas sólidas, este es mecanismo de defensa de las bacterias, por lo cual, también es dependiente del metabolismo, sin embargo, la precipitación ocurre por la interacción química entre la superficie celular y el metal, no requiere gasto energético (Núñez Moreno, 2022). La formación de compuestos o quelación ocurre en la superficie celular y consiste en la formación de sustancias complejas una vez que el metal haya interactuado con los grupos activos (carboxilo, tiol, amino) de la pared celular (Akhtar-E-Ekram et al., 2019).

El intercambio iónico ocurre cuando los polisacáridos de la membrana celular son intercambiados por iones metálicos; dicha unión puede ser física o química (Castillo-Ortega et al., 2022). Adicional a estos, también existen otras vías de remoción tales como la adsorción, la cual se define como el fenómeno en el cual el metal se adhiere a la superficie de la pared celular mediante interacciones no covalentes, como fuerza de dispersión de London, ya que en este no ocurre un intercambio iónico el proceso es reversible (López Hernández & Morales Hernández, 2022).

Otra es la difusión es cuando entran diferentes cationes hacia la célula a través de la membrana, esto ocurre principalmente por aquellos metales que presentan una misma carga y radio iónico que los metales esenciales (magnesio, sodio, potasio) (Téllez Palacios et al., 2014). Sin embargo, este mecanismo no está relacionado al metabolismo (Montenegro et al., 2019).

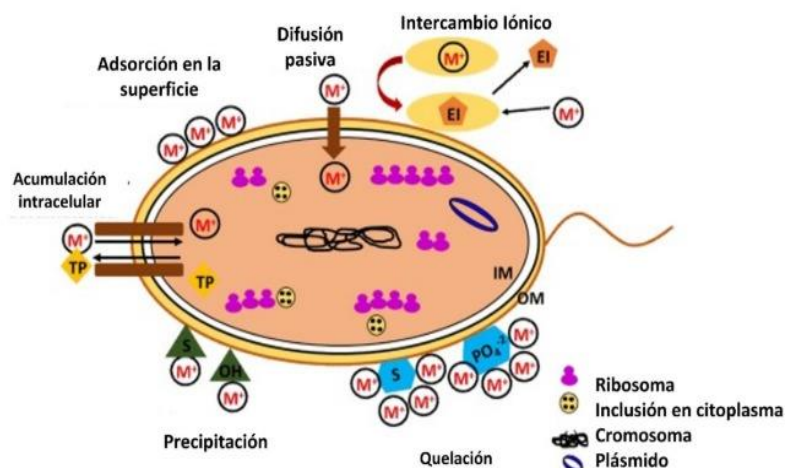
2.6.3 Mecanismos de tolerancia

Los microorganismos que habitan en suelos contaminados con metales pesados han desarrollado diversos mecanismos de tolerancia que les permiten sobrevivir y mantener su actividad metabólica en condiciones de estrés extremo (Maco-García & Sandoval Zamora, 2017). Entre los mecanismos mas

relevantes se encuentran la bioacumulación intracelular que implicación la captación activa del metal y su posterior almacenamiento en vacuolas o union a proteínas quelantes como metalotenas; transformación enzimática, algunos microorganismos pueden reducir o transformar los metales a formas menos tóxicas; producción de exopolisacáridos (EPS), estos polímeros extracelulares actúan como una barrera protectora atrapando los metales de la matriz extracelular limitando su ingreso a la célula y biosorción por proceso pasivo por el cual los metales son adsorbidos en la superficie celular mediante interacciones con grupos funcionales como carboxilos, fosfatos y aminas presentes en la pared celular, estos mecanismos no solo permiten la supervivencia de las bacterias en ambientes contaminados, sino que también hacen posible su uso como herramientas biotecnológicas (Huaranga Moreno et al., 2021).

Figura 1.

Esquema de mecanismos de remoción de metales por bacterias según López Hernández & Morales Hernández, (2022)



III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Descripción de zona de estudio

Para la recolección de muestras se procedió a la indentificación de 3 zonas de estudio, las que ubicaron en en la margen derecha del Río Tumbes (**Tabla 1, Figura 02**). Se realizó un muestreo de tipo dirigido, teniendo en cuenta los siguientes aspectos, disposición de material, las vías de acceso a cada punto de muestreo y los antecedentes de contaminación reportados en dichos sectores señalados, según ANA, (2017), *la cuenca del río Tumbes presentaba diversos problemas de calidad ambiental, principalmente asociados a descargas de aguas residuales domésticas, arrastre de sedimentos y trazas de metales desde la parte alta, aportes agrícolas, y acumulación de residuos sólidos en las zonas ribereñas. Asimismo, se registraron incrementos de DBO, DQO y coliformes en áreas urbanas adyacentes al cauce, evidenciando un deterioro progresivo de la calidad del agua y del ambiente en los márgenes del río especialmente en la zonas ribereñas.*

Tabla 1. *Puntos de muestreo.*

Sectores	N° muestras	Coordenadas UTM	Ciudad
Barrio San José	2	586477 E - 9612077 N	Tumbes
San Juan de la Virgen	2	532290 E - 9550813 N	Tumbes
Pampas de Hospital	2	576635 E - 9625447 N	Tumbes

Se recolecto 6 muestras simples de cada punto de muestreo en los puntos antes mencionados.

Las áreas donde se recolectaron las muestras se eligieron debido a los estudios realizados por Núñez Moreno., (2022) y Núñez.,(2018), los cuales demostraron que en las zonas ribereñas se encuentra la mayor concentración de metales pesados, producto de los sedimentos que se almacenan en la superficie terrestre debido a la filtración del agua. Previamente a la recolección de muestras los materiales (palana, tijera

podadora) fueron desinfectados con alcohol al 70% y se utilizó guantes esteriles para garantizar condiciones asépticas. Para la toma de muestras rizosfericas se realizaron hoyos tipo calicata con una profundidad de 20 cm, considerando la zona de mayor densidad radicular y un diámetro entre 10 y 15 cm. Estos hoyos se realizaron de forma aleatoria en torno a las raíces de las plantas herbáceas (*Euphorbia lathyris* y *Momordica charantia*) extrayendo cuidadosamente una cantidad de 500 g de suelo adherido a las raíces, el cual representa la fracción activa de la rizosfera. Finalmente, las muestras fueron colocadas en bolsas esteriles y trasladadas en cooler a 4°C al laboratorio de Biotecnología molecular –Universidad Nacional de Tumbes.



Figura 3. Recoleccion de rizosfera en la orilla del rio. (a. especie tartago, b. especie papayita de soña)

La recolección de *Euphorbia lathyris* y *Momordica charantia* se llevó a cabo en zonas ribereñas, próximas a la orilla del rio, donde ambas especies crecen de forma silvestre (Daza Torres et al., 2014). Estas áreas presentan condiciones edafoclimáticas favorables para el desarrollo de comunidades rizosfericas activas (Huaranga Moreno et al., 2021). El muestreo se realizo durante la temporada seca, antes del periodo de lluvias intensas, con el fin de evitar la alteración del suelo por inundaciones y asegurar el acceso a los puntos de recolección (Núñez Moreno., 2022 ; Núñez.,2018).

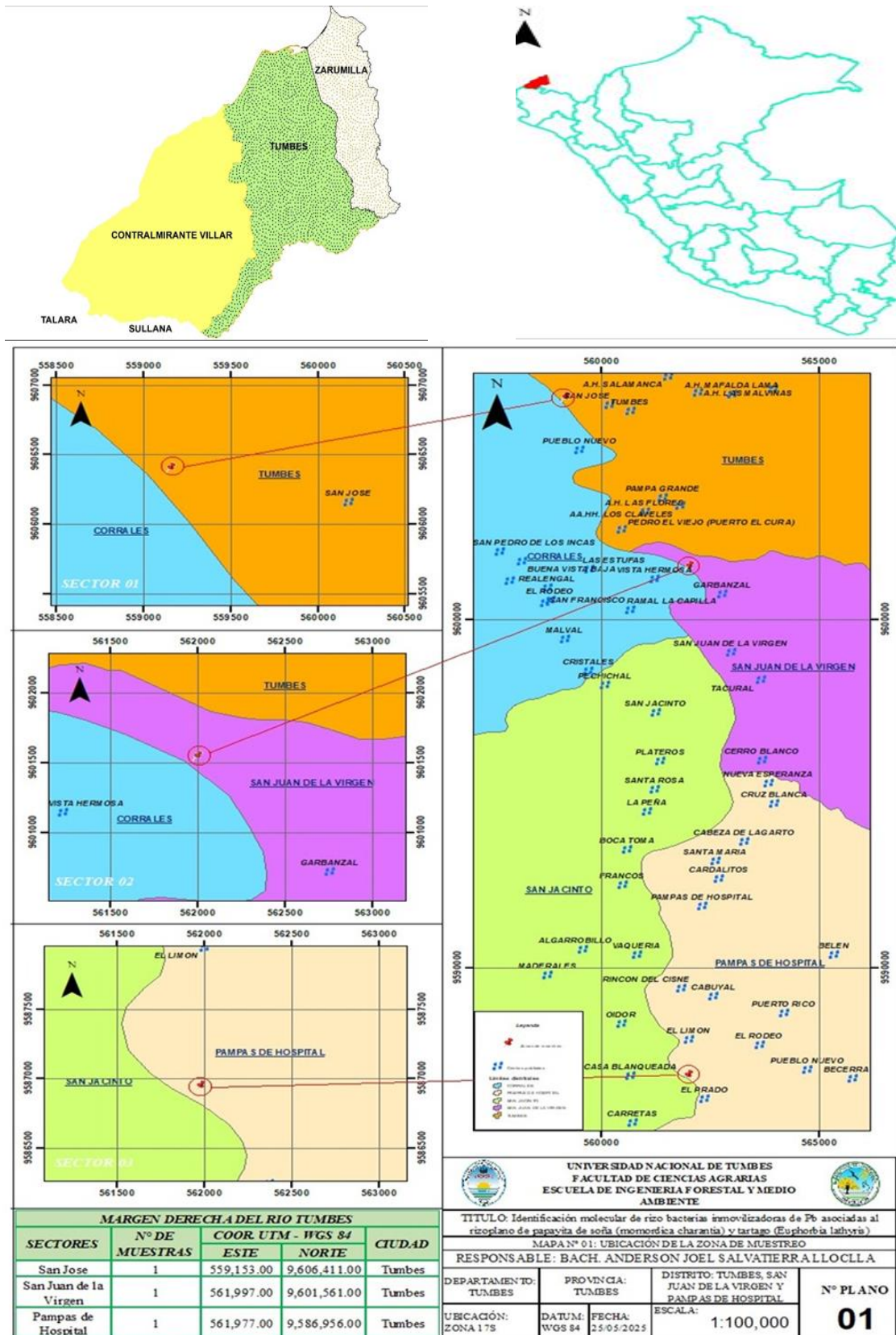


Figura 2. Sectores de ubicación de recolección de muestras.

3.2 Aislamiento y purificación de bacterias:

El aislamiento bacteriano se llevo a cabo teniendo como referencia la metodología de Puga (2018), que utilizo los medios de cultivo tripticasa soya agar (TSA) suplementado con concentraciones de plomo (Pb) de 0.05 mg/l y 2 mg/l respectivamente. Para ello, se preparon placas petri con las concentraciones mencionadas, sirviendo como medios selectivos. Previamente, al aislamiento se realizo un pre-enriquecimiento bacteriano mediante la inoculación de 1 g de suelo rizosférico en 19 mL de caldo luria-bertani (LB), contenido en tubos falcon de 50 ml. Esta suspensión fue incubada bajo agitación constante en un agitador orbital durante 5 horas a temperatura ambiente, con el fin de favorecer el crecimiento de bacterias presentes en la muestra (co-cultivo). Una vez finalizado el periodo de incubación, se efectuaron diluciones seriadas de la suspensión bacteriana. Para ello se utilizaron microtubos de 1.5 mL, a los cuales se añadieron 900 µl de solución salina estéril y 100 µl del cultivo previo, obteniéndose diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . Estas diluciones permitieron reducir progresivamente la carga bacteriana de la muestra original. Posteriormente, se sembraron 10 µl de cada dilución sobre placas petri preparadas con TSA y las correspondientes concentraciones de Pb. La siembra se realizó por dispersión con hisopos estériles y las placas fueron selladas con cinta de parafina incubándose a temperatura ambiente durante 24 horas. Las colonias que lograron desarrollarse en ambas concentraciones fueron seleccionadas para su posterior purificación. Dicha purificación consistió en la resiembra de colonias individuales sobre nuevas placas con TSA, utilizando un mondadientes esteril para extraer pequeñas porciones bacterianas. Este procedimiento se repitió entre tres a cinco veces a fin de obtener cultivos puros para su posterior caracterización.



Figura 3. Aislamiento de colonias de bacterias a partir de rizosfera de tartago y papayita de soña

3.2.1 Caracterización Morfológica.

Teniendo como referencia la metodología de Suarez (2018) ; Finalizada la siembra en placas, se identificaron las características morfológicas de las colonias clasificándose por tamaño, forma, color, elevación, y se evaluaron de manera visual. Posteriormente se realizaron 3 purificaciones para confirmar la pureza de la bacteria de cada aislamiento bacteriano. Una vez obtenidas las colonias con morfología homogénea se procedió a la confirmación microscópica mediante tinción Gram. Previamente, las bacterias inoculadas en caldo Luria-Bertani (LB) se incubaron durante 24 horas a temperatura ambiente, la aparición de turbidez en el medio confirmó el crecimiento bacteriano. Seguidamente se dispersó 5 µl de caldo bacteriano (LB + bacteria), en tubo de 0.2 mL para luego extraer 1 gota y se colocó en una lamina porta objetos, esparciéndose y colocándose cerca de la flama para la fijación de las células bacterianas. Siguiendo con el proceso se utilizó reactivos para la identificación, como se describe a continuación: 30 µl de cristal violeta por 1 minuto; seguidamente se agregó 30 µl de lugol por un minuto, luego 25 µl de alcohol por 5 seg, finalmente 30 µl de safranina por un 1 min. Para concluir con el procedimiento se llevaron las muestras al microscopio para ser observadas y se clasificaron en cocos y bacilos (**Tabla 3**), tener en cuenta que para cada cambio de reactivo se lavó con agua destilada para evitar cualquier tipo de impurezas.



Figura 4. Materiales utilizados durante la caracterización morfológica

Tabla 2. Los parámetros que se evaluaron en la caracterización morfológica de las bacterias aisladas de rizosfera de *Momordica charantia* y *euphoria latiryis*. Utilizando el medio TSA.

morfología	Parámetro	Descripción
Morfología de la colonia	Tamaño	Mediana y grande
	Color	Crema y blanca
	Forma	Iregular
	Elevación	Elevada plana
	Color	Morado rojo
Morfología celular	Tinción gram	Gran positivos y gran negativos
	Forma	Cocos y bacilos

3.2.2 Extracción de ADN bacteriano

Se utilizo como referencia la metodología utilizada por Suarez (2016), la que se describe a continuación:

Para la extracción de ADN genómico bacteriano, se tomo 1 mL de un cultivo bacteriano puro y se centrifugo a 13000 rpm durante 5 minutos. El sedimento celular se lavo con 500 µl de solución salina tamponada con fofato (PBS) 1x y se centrifugo nuevamente a 10000 rpm por 2 minutos, usando una centrifuga refrigerada (mikro, 220 r) . Posteriormente, se elimino el sobrenadante y se añadieron 200 µl de solución TE (Tris 10 mg/l y EDTA 1 mg/l , pH 8). La mezcla se calentó a ebullición durante 10 min y se procedio a enfriar en hielo durante 5 min. Finalmente se centrifugo a 10000 rpm, y el sobrenadante obtenido, que contenia el ADN se transfirió a un tubo limpio para su posterior analisis.



Figura 4. *Extracción de ADN bacteriano*

3.2.3 Amplificación del gen 16S ARNr

Se utilizó la metodología de Valenzuela *et al.*, (2015). Mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR). En dicho proceso se utilizó un volumen de reacción de 25 μ l, el cual se programó para un total de 35 ciclos en un termociclador (Miniamp plus, 500W). La temperatura de predesnaturalización fue de 95°C durante 5 minutos. Los ciclos consistieron en: Desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, hibridación a 57°C durante 45 segundos, polimerización a 72°C durante 1 minuto y 30 segundos, finalmente, se realizó una extensión final a 72°C durante 4 minutos. Para asegurar la elongación completa de los productos amplificados.

Se emplearon primers universales dirigidos a regiones altamente conservadas del gen 16S ARNr, permitiendo la amplificación de un fragmento aproximado de 1.5 kb. Estos cebadores son ampliamente utilizados para la identificación molecular de bacterias debido a su alta especificidad y capacidad para cubrir zonas variables del gen

Tabla 3. *Primers empleados para la amplificación del gen 16S ARNr en aislamientos bacterianos.*

Primer	Secuencia (5' – 3')	Función
27 F	5'- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'	Inicia la amplificación en la región conservada del extremo 5' del gen 16s ARN
1492 R	5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'	Amplifica el extremo 3' del gen 16s ARNr obteniendo un fragmento aproximado de 1.5 Kb

A continuación se detallan los reactivos y volúmenes empleados para preparar la mezcla de amplificación por PCR, con un volumen final de 25 μL . Esta composición asegura condiciones adecuadas para la obtención de un amplicón específico del gen 16S ARNr.

TABLA 4. *Reactivos utilizados para la reacción de amplificación del gen 16S ARNr*

Reactivo	Volumen
ADN molde	2.5 μL
Primer 27 F	1 μL
Primer 149 R	1 μL
dNTPs	0.5 μL
Buffer	1–2 μL
Taq polimerasa	0.2–0.5 μL
Agua libre DNasa	25 μL
MgCl ₂	1.5–2.0 μL



Figura 5. *Rizobacterias utilizadas durante la PCR.*

3.2.4 Electroforesis

Este proceso consiste en la verificación de productos de PCR o amplicones, para ello se preparo gel de agarosa a 1.5% y solución de Tripticasa Soya Agar (TSA), para la preparación de las muestras se mezclaron 8 μL del

amplicon con 2 µl de colorante intercalante SYBER SAFE, posteriormente se cargaron en el gel y se sometieron a electroforesis, La visualización de las bandas de ADN se realizó utilizando un Transiluminador de luz azul (SmartBlue, 465 nm) confirmando la presencia y el tamaño esperado de los fragmentos amplificados.

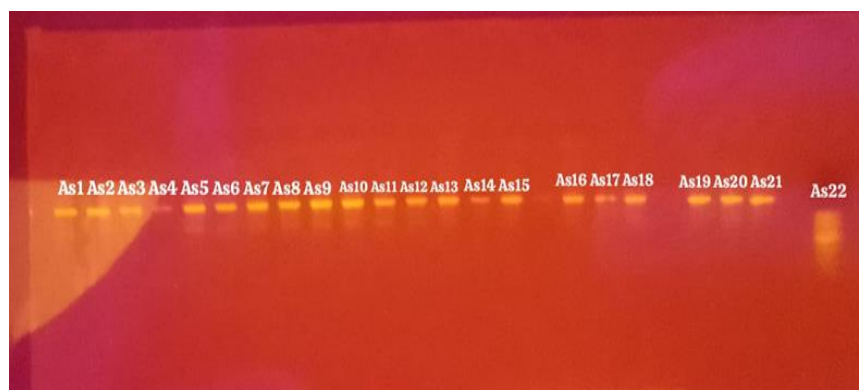


Figura 6. Visualización de las bandas

3.2.5 Secuenciamiento:

Los productos de PCR amplificados fueron preparados conforme a las especificaciones del laboratorio y enviados al servicio de secuenciación a la empresa Biotecop S.R.L para su análisis. Una vez obtenidas las secuencias, se procedió a un análisis bioinformático utilizando el software Bio Edit (software libre), el cual permitió realizar la alineación edición y depuración preliminar de los datos genéticos posteriormente las secuencias fueron comparadas con las depositadas en la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), mediante la herramienta BLAST (*Basic Local Alignmet Search Tool*), con el fin de identificar similitudes y diferencias de referencia, facilitando así la identificación molecular de las cepas bacterianas evaluadas.

3.2.6 Evaluación de concentración mínima inhibitoria de Pb

La concentración mínima inhibitoria (MIC) se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por Nath., (2014). el procedimiento consistió en evaluar el crecimiento de las cepas bacterianas frente a distintas concentraciones de Pb durante un periodo de incubación por 6 días. Para

ello, se prepararon medios de cultivo suplementados con concentraciones de Pb, (mg/L) iniciando con 2 mg/L como concentración base, para posteriormente aumentar progresivamente a 5, 10, 20, 30 40, 50, 60, y 80 mg/L, de acuerdo como lo estableció Dey., (2016) en sus investigaciones. Las placas fueron inoculadas con suspensiones de 1×10^8 UFC/mL e incubadas a temperatura ambiente (20 °C) durante 24-48 horas. Finalizado el periodo de incubación se evaluo el crecimiento bacteriano. La presencia de crecimiento visible fue registrada como resultado positivo, permitiendo así determinar el umbral de tolerancia al Pb para cada aislamiento.



Figura 7. *Conteo del crecimiento de bacterias en pruebas MIC.*

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Asilamiento de cepas

Se realizó una clasificación basada en la morfología celular, considerando características como el tamaño, color, forma, elevación, así como la tinción Gram y la asignación en género Pascarella (2020). Señaló que los parámetros morfológicos descritos constituyen criterios fundamentales para la identificación visual preliminar de bacterias, mostradas en el anexo.

Tabla 5. Características morfológicas de las cepas bacterianas aisladas den las zonas de muestreo del rio tumbes.

Ubicación	Código	Tamaño	Color	Forma	Elevación	genero	Gram +/-)	Color
ZONA 1 (Barrio San José)	AST1	ME	CR	IR	EL	CB	+	MOR
	AST2	ME	CR	IR	EL	CB	+	MOR
	AST3	ME	CR	IR	EL	CB	+	MOR
	AST4	ME	CR	IR	PL	CB	+	MOR
	ASP5	ME	CR	IR	EL	CB	+	MOR
	ASP6	PEQ	CR	IR	EL	CB	-	MOR
	ASP7	ME	CR	IR	PL	CB	+	MOR
	ASP8	ME	CR	IR	PL	CB	+	MOR
ZONA 2 (San Juan de la Virgen)	AST9	GR	CR	IR	PL	B	+	MOR
	AST10	ME	CR	IR	PL	B	+	MOR
	AST11	GR	CR	IR	EL	B	+	MOR
	AST12	ME	BL	IR	EL	B	+	ROJ
	AST13	GR	BL	IR	EL	B	+	ROJ
	AST14	ME	BL	IR	PL	B	+	MOR
	ASP15	ME	BL	IR	PL	B	+	ROJ
	ASP16	ME	CR	IR	PL	B	+	MOR
ZONA 3 (Pampas de Hospital)	ASP17	ME	CR	IR	EL	B	+	MOR
	ASP18	ME	CR	IR	EL	B	-	MOR
	AST19	ME	CR	IR	PL	B	+	MOR
	AST20	PE	CR	IR	PL	B	+	MOR
	AST21	PE	CR	IR	PL	B	+	MOR
	ASP22	PE	CR	IR	EL	B	+	MOR
	ASP23	PE	CR	IR	EL	B	+	MOR

Nota: Mediana (ME), Irregular (IR), Pequeña (PEQ), grande (GR). bacteriana: mediana (ME), pequeña (PE), irregular (IR), elevada (EL), p bacilos(B), positivo (+), morado (MOR) y rojo (ROJ).

Los códigos AS , representan el nombre del autor seguido de una letra . donde T identifica las sepas asociadas a tartago y P a las sepas provenientes de papayita de soña, seguido del numero de la muestra . En la tabla 4, se aprecia un total de 23 cepas bacterianas aisladas, de las cuales 11 pertenecen a la rizosfera de tartago y 12 a la rizosfera de papayita de soña. Todas las cepas fueron caracterizados morfológicamente. En cuanto a la morfología de la colonia, el 60% de colonias bacterianas presenta tamaño mediano 60 %, grande 30%, 15% tamaño pequeño y el 5% tamaño irregular ; asimismo el color de las colonias bacterianas se clasifico en 2 colores; crema con 60% y 40% de color blanco la elevacion se clasificó con 50% elevada, 30% plana, 25% irregular y 5% pequeña ; la forma se ordeno en irregular con 100% ; el genero se categorizo en coco-bacilos con 75% y bacilos con 25%. Finalmente se tiene el parámetro de elevación esta se clasifico en elevada con el 8% y plana con el 11%.

La tinción de Gram permitió clasificar los aislados bacterianos en Gram positivos y Gram negativos, registrándose un 95% de cepas Gram positivas y un 5% de Gram negativos . Estos resultados son consistentes con lo reportado por Mentaberry (2011), quien obtuvo proporciones similares al caracterizar rizobacterias asociadas a *Momordica charantia*, empleando parámetros comparables en la identificación morfológica y celular. En ambos estudios se utilizó el medio de cultivo TSA, reconocido por su alta disponibilidad de nutrientes que favorecen el crecimiento de una amplia diversidad bacteriana.

forma, tamaño, color y tinción de Gram, podrían estar influenciadas por diversos factores climáticos y edáficos del entorno donde habitan las comunidades microbianas, así como por la ubicación geográfica de las áreas de muestreo, tal como lo describe Fernández Yarlequé (2019).

Asimismo, la ubicación geográfica de las zonas de muestreo condiciona la diversidad y adaptación microbiana, reflejando la influencia de los entornos particulares donde estos organismos se desarrollan, según Núñez (2018). En relación con la disminución de metales pesados observada en las zonas ribereñas del río Tumbes, especialmente hacia sus tramos bajos, esta puede explicarse por múltiples factores de naturaleza ambiental, hidrológica y antrópica (Romero Saavedra, 2022).

A medida que el río desciende, recibe aportes de afluentes con menor carga contaminante, lo que genera un efecto de dilución en la concentración de metales pesados. Este fenómeno es particularmente evidente cuando las fuentes de contaminación, como los relaves mineros o las descargas industriales, se encuentran concentradas en los tramos altos o medios del cauce (Gavilanez García, 2016).

En este contexto, es importante resaltar la influencia de las actividades mineras informales ubicadas en la zona norte del Ecuador, próximas a la frontera con Perú, las cuales han generado depósitos de relaves sin un tratamiento adecuado. Estos residuos, ricos en metales pesados como plomo, cadmio y arsénico, son arrastrados hacia el río Tumbes mediante la precipitación o escorrentía superficial, afectando principalmente los tramos superiores del sistema fluvial (García Peña, 2020).

Finalmente, es importante considerar que en los tramos inferiores del río Tumbes existe una menor exposición a descargas directas de contaminantes, como relaves mineros activos o aguas residuales sin tratamiento, lo que contribuye a la reducción en la acumulación de metales pesados en las márgenes del río (Puño, 2018).

4.2. Caracterización molecular de bacterias aisladas

De los 23 aislados bacterianos caracterizados morfológicamente; únicamente se identificaron 12 cepas, esto debido que en las restantes la calidad del ADN no fue adecuada para lograr una amplificación confiable, la amplificación se realizó mediante el gen 16S rRNA, el cual es un marcador altamente conservado utilizado para la identificación filogenética de bacterias. Las secuencias resultantes fueron comparadas con la base de datos universal de genomas del NCBI. (Anexo I).

Tabla 6. Identificación molecular de la rizosfera de *E. lathyrus* y *M.charantia* mediante secuenciamiento.

Muestra	Cobertura (%)	Identidad (%)	Identificación molecular	Genoma de referencia	Fuente
1S	36%	95.29%	Serratia surfactantfaciens	NR_169468.1	Rizosfera
2S	45%	90.38%	Serratia surfactantfaciens	NR_169468.1	Rizosfera
3S	39%	91.85%	Serratia surfactantfaciens	NR_169468.1	Rizosfera
4S	68%	97.93%	Serratia surfactantfaciens	NR_169468.1	Rizosfera

Muestra	Cobertura (%)	Identidad (%)	Identificación molecular	Genoma de referencia	Fuente
5S	65%	84.68%	<i>Serratia marcescens</i>	NR_114043.1	Rizosfera
6S	81%	97.69%	<i>Serratia nematodiphila</i>	NR_044385.1	Rizosfera
7S	79%	88.01%	<i>Serratia marcescens</i>	NR_114043.1	Rizosfera
8S	76%	87.39%	<i>Serratia surfactantfaciens</i>	NR_169468.1	Rizosfera
9S	46%	95.44%	<i>Serratia surfactantfaciens</i>	NR_169468.1	Rizosfera
10S	56%	81.42%	<i>Serratia surfactantfaciens</i>	NR_169468.1	Rizosfera
11S	56%	73.20%	<i>Pectobacterium zantedeschiae</i>	NR_179912.1	Rizosfera
12S	54%	90.26%	<i>Serratia surfactantfaciens</i>	NR_169468.1	Rizosfera

Como se observa en la tabla 6, se identificaron molecularmente diferentes aislamientos bacterianos obtenidos de la rizosfera, empleando secuencias del gen 16S ARNr como marcador molecular. Los resultados evidencian una predominancia del género *Serratia*, particularmente de la especie *Serratia surfactantfaciens*, con un total de ocho aislamientos identificados: cinco provenientes de la rizosfera de *Euphorbia lathyris* y tres de la rizosfera de *Momordica charantia*. La abundancia de esta especie sugiere una posible adaptación a las condiciones particulares de las rizosferas muestreadas, posiblemente asociada a su capacidad de producción de surfactantes, lo que podría conferirle ventajas competitivas en la colonización del entorno rizosférico (Ximang, 2016).

Asimismo, se identificó la presencia de la especie *Serratia marcescens*, con dos aislamientos: uno asociado a la rizosfera de *Momordica charantia* y otro a la de *Euphorbia lathyris*. También se detectó la presencia de *Serratia nematodiphila* en la rizosfera de *Euphorbia lathyris* y de *Pectobacterium zantedeschiae* en la rizosfera de *Momordica charantia*, similar a lo reportado por Singh (2023).

La cobertura y el porcentaje de identidad de las secuencias obtenidas variaron considerablemente entre muestras, oscilando entre el 36 % y el 81 % de cobertura, y entre el 73.20 % y el 97.93 % de identidad. Estos resultados indican una heterogeneidad en la calidad de las secuencias, lo cual podría estar relacionado

con factores técnicos (como la eficiencia de amplificación o la calidad del ADN) o biológicos (como la presencia de cepas divergentes o variaciones en la región 16S ARNr) (Kumar, A, 2022).

Estos hallazgos sugieren que el género *Serratia* es capaz de prosperar en las zonas ribereñas del río Tumbes, adaptándose a las altas temperaturas, entornos contaminados por metales y a los diversos factores climáticos y edáficos de la región (Kumar.,2022 ; Romero Saavedra., 2022).

Tabla 7. *Funciones de bacterias del género serratia en el contexto vegetal y del suelo.*

Género	Función	Referencias
<i>serratia surfactantfaciens</i>	Produce biosurfactantes que mejoran la disponibilidad de nutrientes ; algunas especies tienen capacidad antifúngica y promotora del crecimiento vegetal (PGPR); Esta bacteria tiene capacidad para fijar nitrógeno, producir sideróforos y enzimas líticas. También puede degradar materia orgánica y convivir con fitopatógenos en la rizosfera.	(Santana-Flores, 2020; & Elphinstone.,2021; & Gutman., 2021; & Xiang., 2016)

Serratia surfactantfaciens fue la especie más frecuente en las muestras analizadas, identificándose en 7 de las 12 muestras (1S, 2S, 3S, 4S, 8S, 9S y 10S). Los valores de identidad varían desde un 81.42% hasta un 97.93%, mientras que la cobertura oscila entre 36% y 76, esta variabilidad puede deberse a varios factores como la calidad del ADN extraído, la presencia de regiones conservadas y variables en el Gen 16 ARNr o incluso a diferencias en el número de copias del Gen en diferentes cepas (Guttman, 2021).

Esto sugiere que la *Serratia surfactantfaciens* tiene un papel ecológico importante en la rizosfera de *E. lathyrus* y *M. charantia*; es conocida por su capacidad para producir biosurfactantes, que son compuestos que pueden mejorar la solubilización de nutrientes y facilitar la competencia microbiana (Xiang, 2016).

La especie *Serratia marcescens* se identificó en las muestras 5S y 7S con porcentajes de identidad de 84.68 % y 88.01 % respectivamente, y coberturas de

65 % y 79% aunque los valores de identidad son mas bajos que en otras especies, su presencia sigue siendo significativa. *Serratia marcescens* es una bacteria oportunista con múltiples capacidades en el ambiente, puede optar como promotora del crecimiento vegetal y tiene propiedades en el contexto de la litosfera. Su presencia podría estar relacionada con su capacidad para competir con otros microorganismos y adaptarse a condiciones ambientales variables. Los valores intermedios de identidad podrían indicar la existencia de cepas nativas ligeramente divergentes respecto al genoma de referencia, lo cual es común en ambientes naturales (Falkiner, 1997).

Por otro lado, la especie *Serratia nematodiphila* fue identificada únicamente en la muestra 6S, con una cobertura alta del 81 % y un porcentaje de identidad del 97.69%. Estos valores indican una identificación confiable. Aunque se trata de una especie menos común, su hallazgo sugiere un papel potencialmente especializado dentro del ecosistema rizosférico. La especie *Serratia nematodiphila* es conocida por su capacidad de interactuar con nematodos, lo cual podría ser relevante en estrategias de control biológico de parásitos del suelo. Además, algunas cepas presentan actividad antifúngica y contribuyen a la solubilización de fósforo. Su presencia en la rizosfera podría estar relacionada con mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal, especialmente en suelos infestados con nematodos (Guttman, 2021).

De igual forma, la especie *Pectobacterium zantedeschiae* fue identificada solo en la muestra 11s con un valor de identidad del 73.20% y una cobertura del 56%, lo que representa la identidad más baja entre todas las muestras. Esto sugiere que la coincidencia con la base de datos de referencia no es óptima y que posiblemente se trate de una cepa muy divergente o incluso de una especie relacionada no escrita (Waleron, 2019).

P. zantedeschiae es una bacteria fitopatógena conocida por causar pudriciones blandas en plantas. Su presencia en la rizosfera podría deberse a un equilibrio ecológico en el que la bacteria no llega a expresarse como patógeno, posiblemente controlada por la competencia microbiana o por condiciones ambientales desfavorables para su actividad patogénica. No obstante, su detección representa

un punto importante de vigilancia, ya que bajo ciertas condiciones podría comprometer la salud del cultivo (Elphinstone, 2021).

La identidad bacteriana corresponde al porcentaje de similitud entre la secuencia genética de un aislado bacteriano y las secuencias de referencia depositadas en bases de datos moleculares (Díaz-López et al., 2020). se observa el porcentaje obtenido tras el análisis de secuencias 16 ARNr de aislados rizosféricos, se observa variabilidad entre aislamientos, con identidades que van desde 73.20% hasta 97.93%, destacando algunos como 4S y 6S con alta similitud, lo que sugiere precisión en la identificación molecular y posibles relaciones filogenéticas estrechas con cepas de *Serratia*.

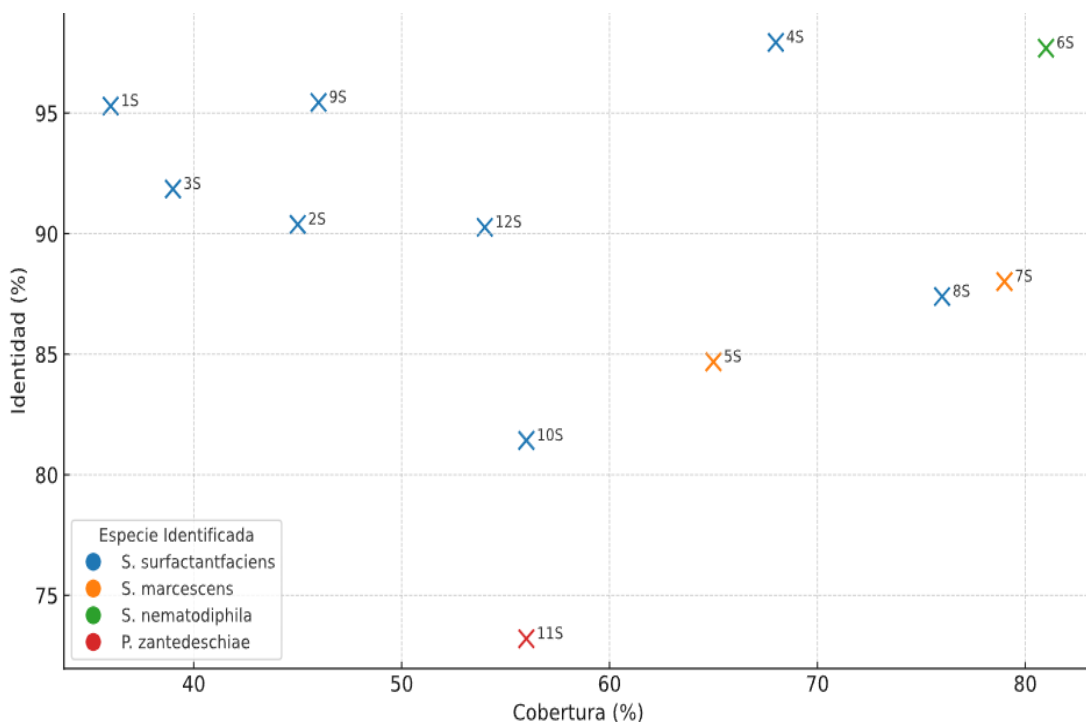


Figura 20. Comparación de cobertura e identidad por identificación molecular.

El presente diagrama de dispersión se emplea con el propósito de comparar los valores de cobertura (%) e identidad (%) obtenidos a través de la identificación molecular de las cepas analizadas. Este tipo de representación gráfica permite observar la relación entre ambas variables y evidenciar la distribución de los aislamientos. Asimismo, mediante el uso de un código de colores, se diferencian

las especies identificadas , lo que facilita la interpretación de los resultados y la identificación de posibles agrupamientos o patrones en ella.

El análisis de secuencias obtenidas de muestras rizosféricas de *E.lathyris* y *M. charantia*, reveló una predominancia del género *Serratia*, con una mayoría de aislamientos identificados como *Serratia Surfactantfaciens*. Las identidades obtenidas oscilaron entre 73.20% y 97.93%, mientras que la cobertura de las secuencias vario desde 36% hasta 81%, lo que refleja una heterogeneidad en la calidad del alineamiento y similitud genética respecto a los genomas de referencia, se evidencio que las muestras 4S y 6S presentaron los valores mas altos tanto de identidad como de cobertura, sugiriendo una alta fiabilidad en su identificación como *S. surfactantfaciens* y *S. nematodiphila*, respectivamente. Por otro lado, algunas muestras como 11S presentaron una baja identidad (73.20%) correspondiendo a otras especies como *Pectobacterium zantedeschiae*, lo cual podría indicar la presencia de otros géneros en menor proporción o con menor afinidad genética, lo que sugiere una diversidad genética moderada en la comunidad bacteriana analizada (Montenegro et al., 2019).

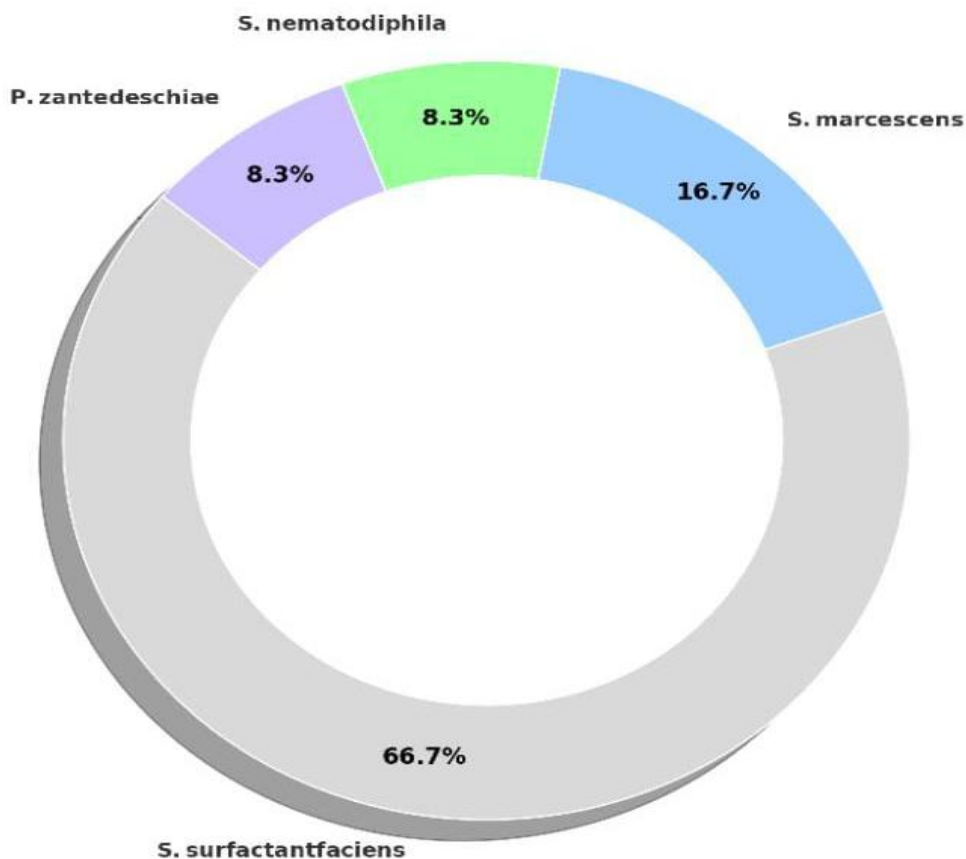


Figura 21. Distribucion de especies identificadas en la rizosfera

En la figura 21, se presenta la distribución porcentual de especies bacterianas identificadas a partir de muestras rizosféricas mediante la secuenciación del gen 16S ARNr. Se observa una predominancia de *Serratia surfactantfaciens*, seguida por *Serratia marcescens* y *Serratia nematodiphila*, lo cual refleja una baja diversidad genérica, pero una alta representatividad de cepas del género *Serratia* en la comunidad microbiana estudiada (Núñez Moreno, 2022).

4.3. Tabla 8 : *Conteo de crecimiento de bacteriano (1×10^8 UFC/mL) en concentraciones dem Pb desde 0.5 mg/l – 80 mg/l*

Código Bacteria	0.5 mg/l	2 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	30 mg/l	40 mg/l	50 mg/l	60 mg/l	80 mg/l
AS1	2402.50*	1228.50	1165.50	863.50	544.00	214.50	185.00	31.50	18.50	0.00
AS2	2917.00	1130.50	1102.00	795.50	526.00	218.50	161.00	28.50	21.00	0.00
AS3	3180.50	1112.50	1065.00	773.50	494.00	212.50	167.50	33.00	19.50	0.00
AS4	2989.50	1228.00	1194.00	833.00	524.00	222.00	149.00	28.50	19.50	0.00
AS5	2621.00	1245.00	1173.50	887.50	546.00	223.00	165.50	27.00	19.00	0.00
AS6	2678.50	1291.50	1169.50	914.50	517.50	227.00	199.00	27.50	17.00	0.00
AS7	2754.00	1213.00	1150.00	929.00	661.00	227.50	204.00	26.50	21.00	0.00
AS8	3294.00	1219.50	1130.50	882.00	668.00	220.50	191.50	27.00	21.50	0.00
AS9	2772.50	1174.50	1133.50	862.00	548.50	237.00	196.00	31.50	19.50	0.00
AS10	2776.00	1082.50	1067.00	845.00	576.50	228.50	194.50	28.50	17.00	0.00
AS11	2306.50	1186.50	1092.50	819.50	554.50	226.00	201.00	25.50	15.00	0.00
AS12	2237.00	1222.50	1112.50	898.50	550.00	231.50	214.50	26.00	16.50	0.00
AS13	2548.00	1259.00	1206.00	891.00	554.50	221.50	199.00	21.50	18.50	0.00
AS14	2716.50	1253.50	1231.00	968.50	527.50	276.00	177.00	28.00	22.00	0.00
AS15	2884.50	1223.00	1206.50	916.50	554.50	299.50	168.00	24.50	24.00	0.00
AS16	2929.50	1227.50	1128.50	866.00	554.50	214.50	189.00	31.00	22.00	0.00
AS17	2716.00	1174.50	1124.50	935.00	539.50	202.50	200.50	28.50	24.50	0.00
AS18	2787.50	1198.50	1091.50	904.00	547.00	219.00	193.00	32.00	20.50	0.00
AS19	3133.50	1152.50	1103.50	864.00	438.50	222.50	150.50	33.00	22.50	0.00
AS20	2937.50	1156.00	1095.50	842.50	452.50	221.50	180.00	29.50	19.00	0.00
AS21	2942.50	1188.00	1131.00	926.50	500.50	226.00	209.00	31.00	17.00	0.00
AS22	2409.00	1140.50	1062.50	812.50	470.00	234.00	198.50	28.00	20.50	0.00
AS23	3007.00	1217.00	1119.50	851.00	519.50	230.50	182.00	28.50	18.50	0.00

*Recuento de colonia por placa (1×10^8 UFC/mL)

La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determinó siguiendo el protocolo descrito por Nath (2014). El procedimiento consistió en evaluar el crecimiento de cepas bacterianas expuestas a diferentes concentraciones de plomo (Pb) durante un periodo de incubación de seis días. Para ello, las placas fueron inoculadas con suspensiones de 1×10^8 UFC/mL, lo cual garantiza una densidad uniforme y adecuada para evaluar la tolerancia bacteriana al plomo evitando, tanto la saturación del medio, asimismo se prepararon medios de cultivo suplementados con Pb, iniciando con una concentración base de 2 mg/l, y aumentando progresivamente a 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 80 mg/l.

Entre 5 y 20 mg/l se observó una disminución progresiva del crecimiento bacteriano, lo que indica una fase activa de inhibición. A partir de 30 mg/l, la reducción del crecimiento fue más pronunciada, y desde 50 mg/l las cepas presentaron niveles casi nulos de desarrollo. Finalmente, a 80 mg/l, el crecimiento fue completamente inhibido. Estos resultados evidencian una tendencia clara de inhibición progresiva del crecimiento bacteriano conforme aumenta la concentración de plomo, tal como lo señaló Dey (2016).

Las 23 cepas fueron suplementadas con Pb a concentraciones crecientes (desde 0.5 mg/l hasta 80 mg/l), para determinar su umbral de tolerancia, tal como lo describió Nath (2014). Se observó una relación inversamente proporcional entre la concentración del metal y el crecimiento bacteriano, evidenciando que a mayor concentración de plomo, menor fue el desarrollo microbiano (Dey., 2016).

La concentración mínima inhibitoria fue determinada empleando plomo en solución estándar, observándose que el crecimiento bacteriano disminuyó progresivamente con el aumento de la concentración del metal (Caviedes., 2012). Este patrón puede explicarse por la elevada biodisponibilidad del ion Pb^{2+} en las sales solubles que genera un inmediato efecto tóxico sobre las células bacterianas (Alfaro M., 2017).

Por otro lado las investigaciones anteriores recurren a formas de plomo con elevada complejidad química, tales como quelatos o sales han reportado niveles superiores de tolerancia microbiana (Huaco Alamo, H. S., 2018). Esto se debe a la liberación más gradual del ión metálico lo que atenúa el estrés celular inicial le favorece la adaptación de las bacterias al entorno contaminado (Gamboa-Angulo M., 2024).

Como resultados la forma química del plomo representa un factor determinante en su toxicidad ; Mientras que las sales solubles liberan iones disponibles de manera inmediata, los compuestos actúan como fuentes controladas del metal, regulando su efecto sobre el crecimiento (Lozano, J. R., 2017).

V. CONCLUSIONES.

- La amplificación del gen 16S rRNA confirmó la identidad de los aislamientos tolerantes a Pb, mientras que las pruebas fenotípicas evidenciaron variabilidad en su tolerancia, reflejada en los valores de CIM. En conjunto, los resultados indican que algunas cepas poseen mecanismos fisiológicos que les permiten mantener su crecimiento bajo estrés por plomo.
- Las pruebas CIM evidenciaron que las rizobacterias mantienen un crecimiento estable en concentraciones bajas de Pb 0.5–10 mg/L; no obstante, a partir de 20 mg/L se observa una inhibición progresiva y dosis-dependiente que se acentúa entre 40 y 60 mg/L, indicando el inicio del umbral tóxico para la mayoría de los aislamientos, culminando en ausencia total de crecimiento a 80 mg/L.
- La caracterización molecular reveló una alta prevalencia del género *Serratia* en la rizosfera de *E. lathyris* y *M. charantia*, especialmente *S. surfactantfaciens*, con identidades superiores al 90% en varias muestras, lo que valida precisión del análisis genético.
- La presencia de otras especies como, *S. marcescens*, *S. nematodiphilla* y *P. zantedeschiae* confirma una diversidad bacteriana moderada. Identidades menores al 85% podrían deberse a secuencias incompletas o a cepas poco representadas, resaltando la necesidad de ampliar las bases de datos para estudios futuros.

VI. RECOMENDACIONES.

1. Se sugiere realizar el muestreo en periodos secos, específicamente antes del inicio de la temporada de lluvias (Diciembre - marzo) debido a que durante estos meses el desborde del río limita el acceso a las zonas ribereñas donde se localizan las especies estudiadas.
2. Considerando el potencial biotecnológico observado en las rizobacterias aisladas, se recomienda evaluar su desempeño en otras especies vegetales, tanto agrícolas como forestales, con énfasis en su posible rol como agentes bioestimulantes o biocontroladores.
3. El potencial biotecnológico también permitiría validar su eficacia en diferentes contextos ecológicos y ampliar sus aplicaciones en sistemas de cultivo sostenible.
4. Se recomienda la implementación de pruebas metagenómicas, como herramientas complementarias en el análisis de comunidades microbianas complejas, estas proporcionan información valiosa sobre la diversidad microbiana y la presencia de patógenos emergentes.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- A Poma, P. (2013). Intoxicación por plomo en humanos. *Anuales de La Facultad de Medicina*, 69(2). <https://doi.org/10.15381/anales.v69i2.1155>
- Akhtar-E-Ekram, M., Talukder, A. P., Haque, N., Tazrian, S., Zaman, S., Uddin, S., & Saleh, A. (2019). Assessing Bioaccumulation Potentiality of Lead- and Chromium- Tolerant Bacterial Strain from Tannery Effluents of Bangladesh through Atomic
- Alcalá de Marcano, D., Pire, A., & Vargas, N. (2005). Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. In *Revista Facultad de Agronomía* (Vol. 22, Issue 4).
- Alonso Fernández, A. M., Palacios Arrieta, D., & Guadalupe Martínez, N. (2023). Biorremediación en Aguas Residuales Acuícolas: Una Revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4). https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i4.7577
- Azcona, C. M. I., Ramírez, A. R., & Vicente, F. G. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 20(1).
- Barragan Monrroy, R. J., Bravo Sánchez, L. R., & Torres Puentes, J. C. (2023). cuantificación de cadmio y plomo en granos de soja (glycine max) comercializados en el cantón quevedo, ecuador. *Revista Bases de La Ciencia*, 7(ESPECIAL). <https://doi.org/10.33936/revbasdelaciencia.v7i3.4242>
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2). <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Benavente Fernández, S. L., Huarcaya Quispe, R. D., Chui Betancur, H. N., Pérez Argollo, K., Roque Huanca, E. O., & Guillen Sosa, N. (2022). Metales pesados en las aguas provenientes de la Rampa San Marcelo, CIA de Minas Sillustani S.A. *Revista Alfa*, 6(18). <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v6i18.187>

- Calder, a. (2023). evaluación del riesgo. In *ISO27001/ISO27002: Una guía de bolsillo*. <https://doi.org/10.2307/j.ctt1pwt92r.18>
- Caravanos, J., Dowling, R., María Téllez-Rojo Dra, M., Cantoral, A., Kobrosly, R., Estrada, D., Orjuela, M., Gualtero, S., Ericson, B., Rivera, A., & Fuller, R. (2014). Niveles de Plomo en Sangre en México y su Implicación para la Carga Pediátrica de la Enfermedad. *Annals of Global Health*, 80(4). <https://doi.org/10.1016/j.aogh.2014.10.005>
- Castillo-Ortega, L. S., Mercado-Flores, Y., Téllez-Jurado, A., & Anducho-Reyes, M. A. (2022). Identificación de rizobacterias aisladas de *Tagetes coronopifolia* y *Tagetes terniflora* (Cempasúchitl) y evaluación de su capacidad inhibitoria in vitro de microorganismos fitopatógenos. *Biotechnia*, 24(3). <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v24i3.1736>
- Contreras-De la Cruz, E. E., Saez-Huaman, W., Sumarriva-Bustinza, L. A., Chávez-Sumarriva, N. L., & Yaulilahua-Huacho, R. (2023). Concentración de metales pesados plomo y arsénico en el botadero de Mollebamba, Huancavelica. *Revista Alfa*, 7(19). <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v7i19.198>
- Corzo, Ibis. Velásquez, M. (2014). El Plomo Y Sus Efectos. *Electrónica y Servicio: 2 Temas Fundamentales de TV*, 8(3).
- Cota-Ruiz, K., Nuñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Rios, M., & Martinez-Martinez, a. (2018). biorremediación: actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotechnia*, 21(1). <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v21i1.811>
- Daza Torres, M. C., Hernández Flórez, F., & Triana, F. A. (2014). Efecto del Uso del Suelo en la Capacidad de Almacenamiento Hídrico en el Páramo de Sumapaz - Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67(1). <https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42642>De, D., De, G., & De, C. (2014). *autoridad nacional del agua*.
- Díaz-López, E., Aguilar-Luna, J. M. E., & Loeza-Corte, J. M. (2020). Net Assimilation Rate and Agronomic Efficiency of Nitrogen in Tartago (*Ricinus communis* L.) (Euphorbiaceae) in Dry Climate. *Scientifica*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/7064745>FACSA. (2017). Metales pesados -

Facsa. *Facsa*, 12.

Fernández Munaylla, K. D. S. (2018). Vulneración al derecho a la salud por contaminación ambiental por plomo en el distrito de Ventanilla 2017. In *Universidad César Vallejo*.

Fonseca-Vera, A. I. (2021). Enfermedades por exposición ocupacional a plomo: revisión sistemática exploratoria de la evidencia cualitativa y cuantitativa. *Revista San Gregorio*, 1(47).

Gamero Esparza, C. (2003). Contaminación por plomo. *Vivat Academia. Revista de Comunicación*. <https://doi.org/10.15178/va.2002.34.7-60>

Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2). <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>

González Rojas, E. H. (2011). Concepto y estrategias de biorremediación. *Inge@uan*, 1(1).

Hernández-Gómez, L. M., Salgado-García, S., Gómez-Leyva, J. F., Córdova-Sánchez, S., Ramírez-May, A. G., Aranda-Ibañez, E. M., & Ortiz-García, C. F. (2020). Diagnóstico sobre las bacterias rizosféricas asociadas al cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Agro Productividad*, 13(4). <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1592>

Huaranga Moreno, F., Méndez García, E., Quilcat León, V., Bernui Paredes, F., Costilla Sánchez, N., & Srl, A. (2021). Phytoextraction of Pb and Cd, present in agricultural soils contaminated by heavy metals by the foxtail *Lolium multiflorum* L. (Poaceae) Félix Huaranga Arévalo. *Arnaldoa*, 28(1).

Jia, S., Shen, M., Zhang, F., & Xie, J. (2017). Recent advances in momordica charantia: Functional components and biological activities. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 12). <https://doi.org/10.3390/ijms18122555>

- Llanos Zevallos, M., Muñiz Paucarmayta, A. A., Muñiz Paucarmayta, M. H., Vílchez Ochoa, G. L., & Cotrina Cabello, G. G. (2024). Contaminación por metales pesados de microcuenca del río Alto Huallaga y suelos agrícolas. *Revista Alfa*, 8(22). <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v8i22.246>
- Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz Garcia, F. G. (2016). los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2). [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
- López Hernández, M. E., & Morales Hernández, O. E. (2022). Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados: una revisión. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 12(2). <https://doi.org/10.5377/elhigo.v12i2.15197>
- Maco-Garcia, J. T., & Sandoval Zamora, E. (2017). presencia de mercurio en el agua y sedimento de fondo en el río nanay, Perú. *Folia Amazónica*, 14(2). <https://doi.org/10.24841/fa.v14i2.406>
- Mentaberry, A. (2011). Fitorremediación. *AGROBIOTECNOLOGÍA*, 4(43).
- Montenegro, S., Pulido, S., & Calderón, L. (2019). Prácticas de biorremediación en suelos y aguas. *Notas de Campus de La ECAPMA*, 1(2).
- Moreno Salazar, S. F., Rentería Martínez, M. E., Ochoa Meza, A., Guzmán Ortiz, J. M., Fernández Herrera, E., & Barrera Silva, M. Á. (2019). Actividad in vitro de promoción del crecimiento vegetal y control biológico de rizobacterias aisladas de zacate bermuda ruderal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2). <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1541>
- Núñez Moreno, M. S. (2022). Aplicación de técnicas de fitorremediación en suelos contaminados con plomo y cadmio. *ConcienciaDigital*, 5(1.3). <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v5i1.3.2089>
- Núñez, R., Meas, Y., Ortega, R., & Olgún, E. (2018). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Ciencia - Academia Mexicana de Ciencias*, 55(3).
- Ocampo Hernández, C. E. (2021). El potencial de la biorremediación. *Herreriana*,

2(2). <https://doi.org/10.29057/h.v2i2.6285>

OMS. (2020). OMS | Plomo. In *OMS | Plomo*.

Pascarella, G., Strumia, A., Piliago, C., Bruno, F., Del Buono, R., Costa, F., Scarlata, S., & Agrò, F. E. (2020). COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 288, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/joim.13091>

Peragallo Barrios, V. H. (2019). Problemática de la contaminación de plomo ocupacional en los laboratorios de ensayos al fuego de minerales auríferos. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 22(44). <https://doi.org/10.15381/iigeo.v22i44.17290>

Perumal, V., Khatib, A., Uddin Ahmed, Q., Fathamah Uzir, B., Abas, F., Murugesu, S., Zuwairi Saiman, M., Primaharinastiti, R., & El-Seedi, H. (2021). Antioxidants profile of *Momordica charantia* fruit extract analyzed using LC-MS-QTOF-based metabolomics. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100012>

Rasche Alvarez, J. W., Fatecha Fois, D. A., Gaona Riego, N. G., Ibarra Olhagaray, J. F., & Rolón Paredes, G. A. (2015). Tártago asociado a cultivos anuales: una opción para la agricultura familiar. *Investigación Agraria*, 17(1). <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2015.junio.27-35>

Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1). <https://doi.org/10.15359/rca.56-1.9>

Rodríguez, D. (2021). Metales pesados y salud. *Correo Científico Médico*, 25(4).

Rojas Padilla, J., Abraham, L., Encinas, C., Icela, R., Montoya, R., De Los, S., & Villalobos, S. (2020). Growth promotion on wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) by co-inoculation of native *Bacillus* strains isolated from the Yaqui Valley, Mexico. *Nova Scientia*, 12(24).

- Rojas Padilla, J., Chaparro Encinas, L. A., Robles Montoya, R. I., & De los Santos Villalobos, S. (2020). Promoción de crecimiento en trigo (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) por la co-inoculación de cepas nativas de *Bacillus* aisladas del Valle del Yaqui, México. *Nova Scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2136>
- Rosero-Garcia, D. A. (2020). La biorremediación en Colombia y sus aplicaciones. *Hechos Microbiológicos*, 10(1–2). <https://doi.org/10.17533/udea.hm.v10n1a05>
- Salas-Marcial, C., Garduño-Ayala, M. A., & Mendiola-Ortiz, P. (2019). Fuentes de contaminación por plomo en alimentos, efectos en la salud y estrategias de prevención. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 8(5).
- Salas, C., Garduño, M. A., & Mendiola, P. (2019). Fuentes de contaminación por plomo en alimentos, efectos en la salud y estrategias de prevención. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 8(5).
- Sánchez Gómez, V., Carrera Villacrés, D., Guevara García, P., & Bolaños Guerrón, D. (2017). Caracterización físico química y caracterización de retención de plomo en los suelos del campo experimental Yachay. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, 1(1). <https://doi.org/10.29166/revfig.v1i1.56>
- Singh, A., Gupta, A., Srivastava, S., Choudhury, B., Jain, S., & Bajpai, A. B. (2023). Assessment its Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Potential of *Momordica Charantia*. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 16(2). <https://doi.org/10.13005/bpj/2672>
- Suárez Contreras, L. Y., & Peñaranda Figueredo, F. A. (2021). Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1). <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1914>
- Suay Matallana, I. (2023). Agnotología, trabajo minero y contaminación por plomo en Linares (1880-1920). *Scripta Nova. Revista Electrónica de Geografía y Ciencias Sociales*, 27(1). <https://doi.org/10.1344/sn2023.27.40418>
- Tambussi, E. (2014). Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico.

Ciencias.Unal.Edu.Co, 1(1).

Téllez Palacios, M., Torres Blandon, I., & Treminio Juárez, F. (2014). Determinación Cualitativa de Plomo en especies marinas obtenidas en Poneloya mediante el Bioensayo Allium Cepa L y marcha Analítica. *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua– León.*

Urrutia, B. (2019). Tolerancia de pleurotus ostreatus a diferentes concentraciones de plomo. *Universidad Técnica Federico Santa María.*

9. ANEXOS 01

MUESTRA : AS1

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100									
select all 100 sequences selected									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	923	923	36%	0.0	95.29%	1495	NR_169468.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	923	923	36%	0.0	95.29%	1532	NR_036886.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila DZ050398S1 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila D...	923	923	36%	0.0	95.29%	1500	NR_044385.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori strain YIM Hb-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter mori	914	914	36%	0.0	94.98%	1522	NR_146667.2	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NRRC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	914	914	36%	0.0	94.98%	1467	NR_114043.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial seq	Serratia marcescens sub...	914	914	36%	0.0	94.96%	1505	NR_041980.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea divisa strain DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea divisa strain DSM 4...	914	914	36%	0.0	94.96%	1453	NR_025243.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	Serratia marcescens sub...	914	914	36%	0.0	94.96%	1454	NR_113236.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter soli ATCC BAA-2192 strain LF7 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter soli ATCC	911	911	36%	0.0	94.79%	1526	NR_112547.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia odorifera strain NRRC 102586 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia odorifera	910	910	36%	0.0	94.79%	1487	NR_114157.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter sichuanensis strain WCHEC11567 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter sichuanensis	910	910	36%	0.0	94.79%	1528	NR_179948.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter chengdeusis strain WCHEC11567 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter chengdeusis	910	910	36%	0.0	94.79%	1538	NR_179167.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter quasiroopinkampii strain WCHEC11060 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter quasiroop...	910	910	36%	0.0	94.79%	1538	NR_170166.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea laeae strain DSM 4587 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea laeae strain DSM 458...	910	910	36%	0.0	94.79%	1531	NR_126319.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea lapagei strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea lapagei	910	910	36%	0.0	94.79%	1532	NR_126317.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia odonifera strain PA03 1673 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia odonifera	910	910	36%	0.0	94.79%	1502	NR_037119.1	

MUESTRA : AS2

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100									
select all 100 sequences selected									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	652	652	45%	0.0	90.38%	1496	NR_169468.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	652	652	45%	0.0	90.38%	1532	NR_036886.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila DZ050398S1 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila D...	652	652	45%	0.0	90.38%	1500	NR_044385.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori LMG 25706 strain R18-2 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter mori LMG	645	645	45%	0.0	89.98%	1285	NR_116430.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori strain YIM Hb-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter mori	643	643	45%	0.0	90.00%	1522	NR_146667.2	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NRRC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	643	643	45%	0.0	90.00%	1467	NR_114043.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Symbiopectobacterium purcellii strain SyEd1 16S ribosomal RNA, partial sequence	Symbiopectobacterium p...	643	643	45%	0.0	90.00%	1538	NR_181864.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea laeae strain DSM 4587 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea laeae strain DSM 458...	643	643	45%	0.0	90.00%	1531	NR_126319.1	

MUESTRA : AS3

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100									
select all 100 sequences selected									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	882	882	39%	0.0	91.85%	1495	NR_169468.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	882	882	39%	0.0	91.85%	1532	NR_036886.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila DZ050398S1 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila	882	882	39%	0.0	91.85%	1500	NR_044385.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NRRC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	873	873	39%	0.0	91.53%	1467	NR_114043.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea laeae strain DSM 4587 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea laeae strain DSM 458...	873	873	39%	0.0	91.53%	1531	NR_126319.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial seq	Serratia marcescens su...	873	873	39%	0.0	91.53%	1505	NR_041980.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	Serratia marcescens su...	873	873	39%	0.0	91.53%	1464	NR_113236.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter soli ATCC BAA-2192 strain LF7 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter soli ATCC	870	870	39%	0.0	91.37%	1526	NR_112547.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori strain YIM Hb-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter mori	868	868	39%	0.0	91.37%	1522	NR_146667.2	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia odorifera strain NRRC 102586 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia odorifera	868	868	39%	0.0	91.37%	1487	NR_114157.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia odonifera strain PA03 1673 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia odonifera	868	868	39%	0.0	91.37%	1502	NR_037119.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Cedecea divisa strain DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	Cedecea divisa strain DSM 4...	868	868	39%	0.0	91.37%	1493	NR_025243.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter sichuanensis strain WCHEC11567 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter sichuanen...	864	864	39%	0.0	91.21%	1528	NR_179948.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter chengdeusis strain WCHEC11567 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter chengdeu...	864	864	39%	0.0	91.21%	1538	NR_179167.1	
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter quasiroopinkampii strain WCHEC11060 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter quasiroop...	864	864	39%	0.0	91.21%	1538	NR_170166.1	

MUESTRA : AS4

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	1817	1817	88%	0.0	97.83%	1495	NR_109498.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain K95D 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	1817	1817	88%	0.0	97.83%	1532	NR_038888.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila D259319831 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila D	1817	1817	88%	0.0	97.83%	1500	NR_044385.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NBRC 182294 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	1808	1808	88%	0.0	97.72%	1467	NR_118243.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 1239 16S ribosomal RNA, partial seq.	Serratia marcescens subsp.	1808	1808	88%	0.0	97.72%	1464	NR_113236.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial se	Serratia marcescens subsp.	1508	1508	88%	0.0	97.62%	1505	NR_041889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia strobilifera strain NBRC 182588 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia strobilifera	1581	1581	88%	0.0	97.19%	1467	NR_118157.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia ficaria strain HGDC 182596 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia ficaria	1581	1581	88%	0.0	97.19%	1467	NR_118155.1

MUESTRA : AS5

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NBRC 182294 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	635	635	65%	0.0	84.68%	1487	NR_118243.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	635	635	65%	0.0	84.63%	1495	NR_109498.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain K95D 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	635	635	65%	0.0	84.68%	1532	NR_038888.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 1239 16S ribosomal RNA, partial se	Serratia marcescens subsp.	635	635	65%	0.0	84.68%	1505	NR_041889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila D259319831 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila D	635	635	65%	0.0	84.52%	1500	NR_044385.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	Serratia marcescens subsp.	634	634	65%	0.0	84.52%	1464	NR_113236.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia urethralis strain NIVa 51 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia urethralis	623	623	65%	8e-178	84.34%	1479	NR_042356.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia bouefaciens strain ATCC 27592 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia bouefaciens	599	599	65%	3e-170	83.57%	1544	NR_122907.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter chroocadensis strain VICHÉ-Cr-C4 16S ribosomal RNA, partial sequence	Enterobacter chroocadensis	599	599	65%	3e-170	83.25%	1538	NR_179187.1
<input checked="" type="checkbox"/> Ectothiorhodospira acicularis strain SCD1109 16S ribosomal RNA, partial sequence	Ectothiorhodospira acicularis	599	599	65%	3e-170	83.25%	1530	NR_159926.1
<input checked="" type="checkbox"/> Rhodospirillum rubrum ATCC 33311 16S ribosomal RNA, partial sequence	Rhodospirillum rubrum ATC	596	596	65%	1e-169	83.25%	1436	NR_024999.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia proteamaculans strain DSM 4543 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia proteamaculans	594	594	65%	4e-169	83.41%	1502	NR_025341.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia grisea strain DSM 20953 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia grisea	594	594	65%	4e-169	83.41%	1495	NR_025349.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia mota strain T2 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia mota	593	593	65%	1e-168	83.44%	1426	NR_179292.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia quinivorans strain 4364 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia quinivorans	593	593	65%	1e-168	83.44%	1508	NR_027152.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia ficaria strain DSM 4589 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia ficaria	593	593	65%	1e-168	83.44%	1495	NR_041879.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia bouefaciens strain ATCC 27592 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia bouefaciens	591	591	65%	5e-168	82.94%	1542	NR_122923.1

MUESTRA : AS6

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia nematodiphila D259319831 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia nematodiphila D	1803	1803	81%	0.0	97.69%	1508	NR_044385.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia surfactantifaciens	1800	1800	81%	0.0	97.80%	1495	NR_109498.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain K95D 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	1800	1800	81%	0.0	97.69%	1532	NR_038888.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens strain NBRC 182294 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia marcescens	1804	1804	81%	0.0	97.51%	1467	NR_118243.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	Serratia marcescens subsp.	1801	1801	81%	0.0	97.45%	1464	NR_113236.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial se	Serratia marcescens subsp.	1874	1874	81%	0.0	97.83%	1505	NR_041889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia rubideva strain DSM 1488 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia rubideva	1853	1853	81%	0.0	96.99%	1509	NR_118178.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia rubideva strain JCM 1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia rubideva	1845	1845	80%	0.0	97.04%	1442	NR_024844.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia rubideva strain NBRC 182189 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia rubideva	1836	1836	81%	0.0	96.44%	1487	NR_118222.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia strobilifera strain NBRC 182588 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia strobilifera	1817	1817	81%	0.0	96.17%	1467	NR_118157.1
<input checked="" type="checkbox"/> Desulfohalobacter sulfidarius strain CD02012987 16S ribosomal RNA, complete sequence	Desulfohalobacter sulfidarius	1816	1816	81%	0.0	96.17%	1542	NR_182218.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia strobilifera strain F400 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia strobilifera	1816	1816	81%	0.0	96.17%	1502	NR_027153.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia ficaria strain DSM 4288 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia ficaria	1815	1815	81%	0.0	96.20%	1495	NR_041879.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia ficaria strain NBRC 182596 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia ficaria	1811	1811	81%	0.0	96.18%	1467	NR_118155.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia entomophila strain DSM 12358 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia entomophila	1810	1810	81%	0.0	96.18%	1516	NR_075338.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia urethralis strain NIVa 51 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia urethralis	1810	1810	81%	0.0	96.09%	1479	NR_042356.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serratia ficaria strain JCM 1241 16S ribosomal RNA, partial sequence	Serratia ficaria	1809	1809	81%	0.0	96.17%	1448	NR_118285.1

MUESTRA : AS7

select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
Serratia marcescens strain NRRC 52224 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	1347	1347	79%	0.0	86.91%	1467	NR_116263.1
Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia surfactantifaciens</i>	1346	1346	79%	0.0	86.15%	1495	NR_169468.1
Serratia nematodiphila D229325051 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia nematodiphila</i> (Serratia nematodiphila)	1342	1342	79%	0.0	87.80%	1500	NR_044380.1
Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	1342	1342	79%	0.0	86.90%	1532	NR_026888.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial seq	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	1342	1342	79%	0.0	87.83%	1464	NR_113236.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial se	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	1338	1338	79%	0.0	87.83%	1506	NR_041980.1
Serratia odonifera strain FVADG 1623 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	1329	1329	79%	0.0	87.66%	1502	NR_027118.1
Serratia odonifera strain NRRC 102598 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	1326	1326	78%	0.0	86.14%	1467	NR_116157.1
Serratia rubideae strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia rubideae</i>	1326	1326	79%	0.0	87.07%	1442	NR_024644.1
Cedexia divisa DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia divisa</i> DSM s	1328	1328	79%	0.0	87.47%	1403	NR_025243.1
Serratia rubideae strain DSM 1482 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia rubideae</i>	1324	1324	79%	0.0	87.66%	1506	NR_116735.1
Chamaebacter araei strain 2976-053 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Chamaebacter araei</i>	1321	1321	79%	0.0	87.28%	1479	NR_186430.1
Haemobacter archeli strain 2124 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Haemobacter archeli</i>	1319	1319	79%	0.0	87.26%	1464	NR_147283.1
Serratia scabra strain NRRC 162596 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia scabra</i>	1317	1317	78%	0.0	86.94%	1467	NR_116150.1

MUESTRA: AS8

select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia surfactantifaciens</i>	1032	1032	76%	0.0	87.39%	1495	NR_169468.1
Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	1032	1032	76%	0.0	87.39%	1532	NR_026888.1
Serratia nematodiphila D229325051 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia nematodiphila</i> (Serratia nematodiphila)	1032	1032	76%	0.0	87.39%	1500	NR_044380.1
Serratia marcescens strain NRRC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	1023	1023	76%	0.0	87.17%	1467	NR_116463.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial seq	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	1023	1023	76%	0.0	87.17%	1506	NR_041980.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	1023	1023	76%	0.0	87.17%	1464	NR_113236.1
Enterobacter soli ATCC 350-2192 strain LF7 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter soli</i> ATCC	1021	1021	76%	0.0	87.96%	1535	NR_117547.1
Enterobacter soli strain YIM Hb-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter soli</i>	1019	1019	76%	0.0	87.96%	1522	NR_148867.2
Cedexia divisa DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia divisa</i> DSM s	1019	1019	76%	0.0	87.96%	1403	NR_025243.1
Enterobacter sibiricus strain WICHEC1597 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter sibiricus</i>	1014	1014	76%	0.0	86.95%	1528	NR_179946.1
Enterobacter chondrostris strain WICHEC1-C4 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter chondrostris</i>	1014	1014	76%	0.0	86.95%	1538	NR_179167.1
Enterobacter quasiproventis strain WICHEC1300 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter quasiproven</i>	1014	1014	76%	0.0	86.95%	1538	NR_179166.1
Cedexia lasiolei strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia lasiolei</i>	1014	1014	76%	0.0	86.95%	1531	NR_126319.1
Cedexia lasiolei strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia lasiolei</i>	1014	1014	76%	0.0	86.95%	1532	NR_126317.1
Serratia odonifera strain NRRC 102598 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	1010	1010	60%	0.0	90.38%	1467	NR_116157.1
Serratia odonifera strain FVADG 1623 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	1010	1010	60%	0.0	90.36%	1502	NR_027118.1
Serratia rubideae strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia rubideae</i>	1010	1010	60%	0.0	90.38%	1442	NR_024644.1
Enterobacter asturiae strain JM-458 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter asturiae</i>	1005	1005	74%	0.0	87.18%	1422	NR_145647.1
Pantoea agglomerans strain JCM1238 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pantoea agglomerans</i>	1005	1005	76%	0.0	86.73%	1449	NR_111998.1

MUESTRA : AS9

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
Serratia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia surfactantifaciens</i>	790	790	56%	0.0	81.42%	1495	NR_169468.1
Serratia marcescens strain KRED 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	790	790	56%	0.0	81.42%	1532	NR_026888.1
Serratia nematodiphila D229325051 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia nematodiphila</i> (Serratia nematodiphila)	790	790	56%	0.0	81.42%	1500	NR_044380.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain DSM 30121 16S ribosomal RNA, partial seq	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	785	785	56%	0.0	81.31%	1506	NR_041980.1
Serratia marcescens strain NRRC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	781	781	56%	0.0	81.19%	1467	NR_116463.1
Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 strain JCM 1239 16S ribosomal RNA, partial sequ	<i>Serratia marcescens</i> subsp.	781	781	56%	0.0	81.19%	1464	NR_113236.1
Serratia odonifera strain NRRC 102598 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	780	780	45%	0.0	85.46%	1467	NR_116157.1
Serratia odonifera strain FVADG 1623 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odonifera</i>	780	780	45%	0.0	85.46%	1502	NR_027118.1
Enterobacter soli strain YIM Hb-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter soli</i>	776	776	56%	0.0	81.06%	1522	NR_148867.2
Cedexia lasiolei strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia lasiolei</i>	776	776	56%	0.0	81.06%	1531	NR_126319.1
Cedexia divisa DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia divisa</i> DSM s	776	776	56%	0.0	81.06%	1403	NR_025243.1
Enterobacter sibiricus strain WICHEC1597 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter sibiricus</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1528	NR_179946.1
Enterobacter chondrostris strain WICHEC1-C4 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter chondrostris</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1538	NR_179167.1
Enterobacter quasiproventis strain WICHEC1300 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter quasiproven</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1538	NR_179166.1
Cedexia lasiolei strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexia lasiolei</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1532	NR_126317.1
Serratia rubideae strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia rubideae</i>	771	771	45%	0.0	85.19%	1442	NR_024644.1

MUESTRA : AS10

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium zantedeschiae strain 9M 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium zantedeschiae</i>	308	308	56%	1e-82	73.20%	1434	NR_179912.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium quasivivarium strain A477-S1-117 16S ribosomal RNA, complete sequence	<i>Pectobacterium quasivivarium</i>	302	302	56%	4e-81	72.87%	1542	NR_181464.1
<input checked="" type="checkbox"/> Providencia vermicola strain DP1 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Providencia vermicola</i>	302	302	56%	4e-81	72.87%	1517	NR_042415.1
<input checked="" type="checkbox"/> Providencia rafterii strain DSM 4542 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Providencia rafterii</i>	302	302	56%	4e-81	72.87%	1497	NR_042413.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium ardeleanum strain SCRI 109 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium ardeleanum</i>	302	302	56%	4e-81	72.87%	1530	NR_159925.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium carotovorum strain LMG 2404 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	299	299	56%	5e-80	72.87%	1497	NR_119287.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium odoriferum strain LMG 17568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium odoriferum</i>	298	298	56%	5e-80	72.60%	1488	NR_025219.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium odoriferum strain CFBP1879 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium odoriferum</i>	298	298	56%	5e-80	72.60%	1530	NR_119229.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium solanum strain NIBIO1392 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium solanum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1534	NR_159988.1
<input checked="" type="checkbox"/> Leminorhella griseola strain J11H-380 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Leminorhella griseola</i>	297	297	56%	2e-79	72.73%	1482	NR_025333.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium carotovorum strain DSM 30168 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1497	NR_041971.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium betavasolum strain CFBP 2122 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium betavasolum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1530	NR_119292.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium betavasolum strain CFBP 2122 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium betavasolum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1530	NR_119291.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium betavasolum strain ATCC 43762 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium betavasolum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1458	NR_026248.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pectobacterium carotovorum strain ATCC 15713 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	297	297	56%	2e-79	72.87%	1457	NR_119855.1

MUESTRA : AS11

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia surfactantifaciens</i>	790	790	56%	0.0	81.42%	1495	NR_159458.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens strain XREO 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	790	790	56%	0.0	81.42%	1532	NR_026889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia nematodiphila DC2002051 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia nematodiphila</i>	790	790	56%	0.0	81.42%	1500	NR_046385.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens subsp. marcescens ATCC 13638 strain DSM 20121 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	785	785	56%	0.0	81.31%	1505	NR_041980.3
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens strain NERC 102204 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	781	781	56%	0.0	81.19%	1487	NR_114843.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens subsp. marcescens ATCC 13638 strain JCM 5238 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	781	781	56%	0.0	81.19%	1484	NR_113238.3
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia odorifera strain NERC 192394 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odorifera</i>	780	780	45%	0.0	85.46%	1487	NR_114157.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia odorifera strain PADQ 1073 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odorifera</i>	780	780	45%	0.0	85.46%	1502	NR_037110.3
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori strain YIM 90-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter mori</i>	776	776	56%	0.0	81.08%	1522	NR_148887.2
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea leopoldi strain DSM 4087 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea leopoldi</i>	776	776	56%	0.0	81.08%	1531	NR_120219.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea divisa strain DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea divisa</i> DSM 4568	776	776	56%	0.0	81.08%	1483	NR_025243.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter schuettensis strain WCHCCL1987 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter schuettensis</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1528	NR_179948.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter chroococcum strain WCHCCL4 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter chroococcum</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1538	NR_179187.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter pasteurianus strain WCHCCL1980 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter pasteurianus</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1532	NR_179188.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea leopoldi strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea leopoldi</i>	772	772	56%	0.0	80.97%	1532	NR_120217.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia tubifera strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia tubifera</i>	771	771	45%	0.0	85.19%	1442	NR_024948.1

MUESTRA : AS12

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia surfactantifaciens strain YD25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia surfactantifaciens</i>	1070	1070	54%	0.0	84.20%	1486	NR_159458.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens strain XREO 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i>	1070	1070	54%	0.0	84.20%	1512	NR_026889.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia nematodiphila DC2002051 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia nematodiphila</i>	1070	1070	54%	0.0	84.20%	1490	NR_046385.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens subsp. marcescens ATCC 13638 strain DSM 20121 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1070	1070	54%	0.0	84.20%	1487	NR_114843.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens subsp. marcescens ATCC 13638 strain JCM 5238 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1070	1070	54%	0.0	84.20%	1484	NR_113238.3
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia tubifera strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia tubifera</i>	1060	1060	34%	0.0	89.96%	1442	NR_024948.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter coli strain ATCC 35061 strain ATCC 35061 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter coli</i> ATCC 35061	1063	1063	34%	0.0	88.78%	1516	NR_117242.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter mori strain YIM 90-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter mori</i>	1061	1061	34%	0.0	88.78%	1522	NR_148887.2
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia marcescens subsp. marcescens ATCC 13638 strain DSM 20121 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1061	1061	54%	0.0	84.74%	1508	NR_041980.3
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea divisa strain DSM 4568 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea divisa</i> DSM 4568	1061	1061	54%	0.0	84.74%	1483	NR_025243.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia odorifera strain NERC 102394 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odorifera</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1487	NR_114157.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia odorifera strain NERC 192394 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odorifera</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1487	NR_114158.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter schuettensis strain WCHCCL1987 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter schuettensis</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1516	NR_179948.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter chroococcum strain WCHCCL4 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter chroococcum</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1530	NR_179187.1
<input checked="" type="checkbox"/> Enterobacter pasteurianus strain WCHCCL1980 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Enterobacter pasteurianus</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1530	NR_179188.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea leopoldi strain DSM 4087 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea leopoldi</i>	1067	1067	34%	0.0	89.96%	1531	NR_120219.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cedexea leopoldi strain DSM 4567 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Cedexea leopoldi</i>	1067	1067	34%	0.0	89.96%	1532	NR_120217.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia tubifera strain JCM1240 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia tubifera</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1442	NR_024948.1
<input checked="" type="checkbox"/> Serattia odorifera strain PADQ 1073 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Serratia odorifera</i>	1067	1067	54%	0.0	86.64%	1502	NR_037110.3

a) Anexo 02 : Galería de fotos

Fig 19. *Recolección de muestras de rizosfera localidad de San jose*



Fig 20. *Cámara de flujo para trabajar el aislamiento de bacterias.*

Fig 21. *Placas de vidrio para la siembra y cultivo de bacterias.*



Fig 22. *Reactivos para realizar tinción Gram.*

Fig 23. *Medio TSA, para el crecimiento de bacterias.*

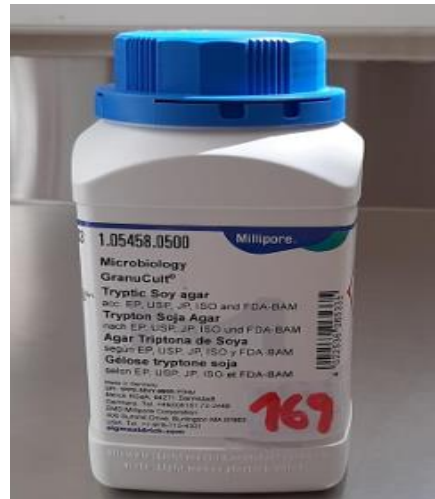


Fig 24. Tincion gram A) Bacilos ; B) Cocos

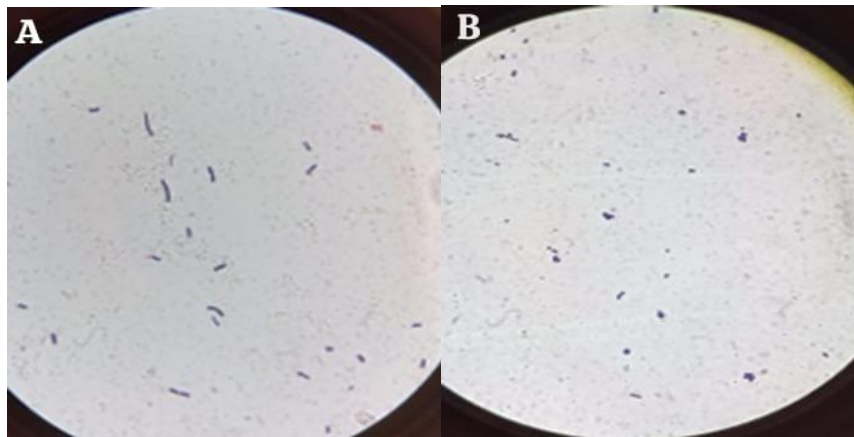


Fig 25. Crecimiento de rizobacterias A) *Euphorbia lathyris* ; B) *Momordica charantia*

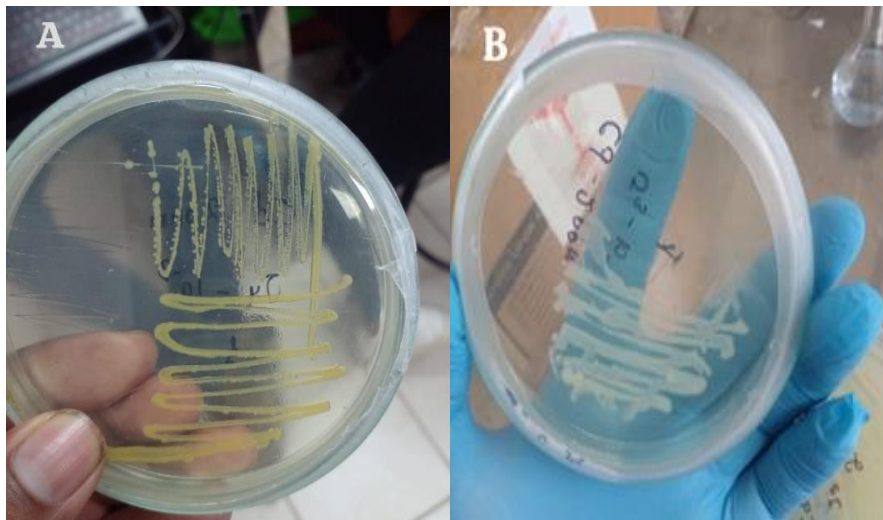


Fig 26. Crecimiento de bacterias de rizosfera.



Fig 27. Extracción de ADN de rizobacterias



Fig 28. Área de electroforesis.



Fig 29. Preparación de bacterias para Secuenciamiento.



Fig 30. crecimiento de rizobacterias pruebas MIC.

