



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA
Y PARASITOLOGÍA**



**“Eficiencia de la remoción de plomo en agua residual sintética
por bacterias aisladas del Dren 4000 en Lambayeque, 2013”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

BR. LUIS DAVID CERNA TAFUR

BR. LUIS EDER ELÍAS COTILLO

LAMBAYEQUE, PERÚ

2015

**“Eficiencia de la remoción de plomo en agua residual sintética
por bacterias aisladas del Dren 4000 en Lambayeque, 2013”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

APROBADO POR:

M Sc. Clara Cueva Castillo

PRESIDENTE

Dr. César García Espinoza

SECRETARIO

Lic. Julio Silva Estela

VOCAL

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

PATROCINADORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2015

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Gladis

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Jorge.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

David

DEDICATORIA

A ti Dios por bendecirme, haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por darme la inteligencia, ser mi fortaleza y brindarme la posibilidad de culminar con éxito este proyecto.

Con mucho cariño a mis padres, Pedro y Elsa, que me dieron la vida y siempre han sido mi apoyo en todo momento, por inculcarme buenos valores y darme la posibilidad de tener una buena educación a lo largo de mi vida, y a pesar que hemos pasado momentos difíciles siempre con su apoyo y amor hemos seguido adelante, gracias por ser mis ejemplos a seguir.

A mis hermanos Julissa, Peter, Sammy y Alexandra, y a mi sobrinita Valeria por ser parte importante de mi vida. Sin su apoyo, colaboración e inspiración no habría sido posible culminar esta meta trazada.

A Fiori, por apoyarme en las buenas y en las malas, y sobre todo por su paciencia y amor.

Eder

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por darme la oportunidad de crecer como ser humano; en segundo lugar a cada persona que conforma la familia Cerna Tafur, por siempre haberme brindado su fuerza y apoyo incondicional que han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora. A nuestros compañeros porque con su amistad y apoyo moral fueron grandes baluartes para lograr esta meta; y en forma especial, a nuestra asesora y amiga, la Dra. Carmen Carreño por su constante ayuda y motivación.

David.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo por cobijarme y darme la oportunidad de una vida llena de aprendizajes para llegar a ser un profesional.

A mi asesora de tesis, Dra. Carmen Carreño Farfán por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia, su motivación y guía ha logrado que podamos acabar este proyecto de investigación con éxito.

Agradezco a los docentes, MSc. Clara Cueva Castillo, Ing. César García Espinoza y Lic. Julio Silva Estela que formaron parte de este proyecto y ayudaron con sus experiencias y conocimientos para culminar satisfactoriamente este proyecto.

También me gustaría agradecer a mis profesores que durante toda mi carrera profesional aportaron con sus enseñanzas, consejos y paciencia.

Y un agradecimiento especial a un gran amigo y compañero de tesis, David Cerna, por compartir esta experiencia como muy pocas en la vida pero que dejan la mayor de las satisfacciones, juntos hemos luchado y juntos hemos empujado hasta en los momentos más complicados este proyecto que culmina ahora y marca un nuevo inicio para la vida profesional, un abrazo y éxitos en todo!

Eder

Índice

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	4
	2.1 Antecedentes de la investigación	4
	2.2 Base teórica.....	8
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	11
	3.1 Materiales	11
	3.2 Métodos	11
	3.2.1 Población y muestra de estudio	11
	3.2.2 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis	11
	3.2.3 Primera fase: Aislamiento de bacterias resistentes al plomo.....	12
	3.2.4 Segunda fase: adaptación de bacterias a concentraciones crecientes de plomo y determinación de la eficiencia de remoción de plomo	25
IV.	RESULTADOS	31
	4.1 Bacterias con resistencia natural al plomo aisladas	31
	4.2 Bacterias nativas adaptadas a concentraciones crecientes de plomo.....	36
	4.3 bacterias nativas resistentes al plomo seleccionadas e identificadas	36
	4.4 Cinética de la remoción de plomo por bacterias seleccionadas.....	36
V.	DISCUSIÓN.....	50
VI.	CONCLUSIONES.....	54
VII.	RECOMENDACIONES.....	55
VIII.	RESUMEN.....	56
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
X.	ANEXOS.....	61

Índice de tablas

Tabla 1.	Posición de los puntos de muestreo de aguas residuales vertidas al dren 4000 de Lambayeque, durante noviembre a diciembre de 2013.....	14
Tabla 2.	Características macroscópicas de las colonias de bacterias Gram positivas resistentes al plomo aisladas de aguas residuales en Lambayeque, 2013.....	33
Tabla 3.	Características macroscópicas de las colonias de bacterias Gram negativas resistentes al plomo aisladas de aguas residuales en Lambayeque, 2013.....	34
Tabla 4.	Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 100 ppm de plomo....	37
Tabla 5.	Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 200 ppm de plomo...	39
Tabla 6.	Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 400 ppm de plomo.....	41
Tabla 7.	Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 600 ppm de plomo....	42
Tabla 8.	Características diferenciales de bacterias nativas resistentes a 600 ppm de plomo.....	44
Tabla 9.	Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de <i>Acinetobacter</i> sp.19B.....	45
Tabla 10.	Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de <i>Pseudomonas</i> sp.23D.....	46

Tabla 11.	Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de <i>Burkholderia</i> sp.60D.....	47
Tabla 12.	Concentración (mgL^{-1}) de biomasa de bacterias nativas en caldo infusión cerebro corazón con 600 ppm de plomo.....	49
Tabla 13.	Parámetros cinéticos de la remoción de plomo en agua residual sintética por <i>Acinetobacter</i> sp.19B, <i>Pseudomonas</i> sp.23D y <i>Burkholderia</i> sp.60D.....	49

Índice de figuras

Figura 1.	Ubicación de la zona de muestreo, correspondiente a un sector del recorrido del Dren 4000, km 764 de la carretera Panamericana Norte en Lambayeque, 2013	13
Figura 2.	Ubicación de los puntos de muestreo de aguas residuales durante enero a marzo de 2014.....	15
Figura 3.	Desembocadura del subcolector A que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque.....	16
Figura 4	Desembocadura del subcolector B que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque.....	16
Figura 5.	Desembocadura del subcolector C que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque.....	17
Figura 6.	Biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.....	18
Figura 7.	Diseño de biorreactor tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.....	19
Figura 8.	Modo de operación de biorreactor tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.....	20
Figura 9.	Obtención de muestra de agua residual.....	22
Figura 10.	Caldo Infusión Cerebro Corazón suplementado con nitrato de plomo.....	22
Figura 11.	Inoculación de agua residual en caldo Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo	23
Figura 12.	Colonias de bacterias desarrolladas en agar Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo.....	23
Figura 13.	Escala convencional para la calificación del crecimiento de bacterias resistentes al plomo.....	24

Figura 14.	Cultivos de bacterias en agar Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo.....	26
Figura 15	Flujograma para la cuantificación de la biomasa por turbidimetría.....	28
Figura 16.	Cultivos de bacterias tolerantes al plomo seleccionadas.....	29
Figura 17.	Muestras de agua residual enriquecidas con plomo en biorreactores tipo tanque, con flujo de aire descendente.....	32
Figura 18.	Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas resistentes al plomo aisladas de muestras de agua residual en Lambayeque, 2014.....	32
Figura 19.	Bacterias aisladas de aguas residuales según su crecimiento en agar infusión cerebro corazón con plomo.....	35
Figura 20.	Cultivos de bacterias nativas según su adaptación a concentraciones crecientes de plomo.....	43
Figura 21.	Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de <i>Acinetobacter</i> sp.19B.....	45
Figura 22.	Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de <i>Pseudomonas</i> sp.23D.....	46
Figura 23.	Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de <i>Burkholderia</i> sp 60D.....	47

I. INTRODUCCIÓN

El plomo es un metal blando, maleable, gris azulado y resistente a la corrosión. Constituye un elemento natural ubicuo que se obtiene por fundición, refinamiento en las minas y secundariamente por el reciclamiento de residuos que contienen plomo. Se encuentra muy difundido en la corteza terrestre, con un promedio de 16 mg kg^{-1} y su forma más abundante es el sulfuro de plomo, PbS (Ramos *et al.*, 2009). El 65% de todo el plomo obtenido se utiliza como metal y 35 % como óxidos y sales orgánicas e inorgánicas (Ubillus, 2003). Además de su uso en la actividad minera, se encuentran las aplicaciones de la fundición industrial del metal en la fabricación de baterías y recubrimiento de cables de electricidad y teléfono, así como también, con la fundición informal se elaboran plomadas para pesca y artículos artesanales. Asimismo, el plomo se utiliza como aditivo de pinturas o como protección anticorrosiva de estructuras metálicas expuestas a la intemperie y la acción del mar.

En múltiples regiones del Perú se han identificado casos críticos de intoxicación por plomo, con efectos indeseables en la salud de sus pobladores; sin embargo, no se han implementado actividades de remediación para enfrentar la contaminación del suelo y agua y tampoco existe un plan para controlar los

residuos atmosféricos (AIDA, 2005). En la atmósfera el plomo se encuentra como material particulado (PM10) de tamaño inferior a 10 μm (WHO, 2005) y en 2004 en la ciudad de La Oroya, departamento de Junín, sierra central del Perú, se cuantificaron 6,5 $\mu\text{g m}^{-3}$, superando ampliamente 1,5 $\mu\text{g m}^{-3}$ que es el nivel máximo permisible para el plomo en el aire, según los Estándares Nacionales de Calidad del Aire: DS N° 074-2001-PCH (Pebe *et al.*, 2008). El plomo es persistente en el ambiente, habiéndose determinado que el suelo cerca de las fundiciones, aún después de culminadas las actividades es una fuente importante para la exposición en niños pequeños.

Las formas de extracción y concentración del mineral, cualquiera que sea su sistema conllevan al consumo de otros químicos tóxicos, que irresponsablemente son vertidos en los ríos. Cerca del 100% del parque automotriz consume baterías, en las que se utiliza plomo litargirio (PbO) y las rejillas donde se acondicionan las placas también son de plomo, aleado con el metaloide tóxico antimonio. El área de recubrimientos con óxidos y sales de plomo, la industria del vidrio, tintes de cabello, cañerías antiguas y soldaduras de plomo generan residuos con el metal pesado y en todos los casos son evacuados por el desagüe (Ubillus, 2003). Se ha determinado que el río Chancay, entre febrero y junio, con un volumen de 40–400 $\text{m}^3 \text{segundo}^{-1}$ contiene cantidades de plomo, mercurio y arsénico nueve veces mayor que los límites determinados por la Organización Mundial de la Salud, sugiriéndose que la concentración se incrementa en los siguientes meses cuando el caudal baja a menos de 20 $\text{m}^3 \text{segundo}^{-1}$ (Vásquez, 2006).

Para la remoción de metales pesados en ambientes acuáticos existen diversos métodos físico-químicos, entre los que destacan: precipitación química, ósmosis, adsorción, filtración, intercambio iónico y ultracentrifugación, obteniéndose resultados satisfactorios. Desafortunadamente, dichos métodos no son efectivos con bajas concentraciones de metales pesados en disolución, especialmente si son menores de 100 mg L^{-1} , tornándose poco viables para la industria, debido a su alto costo y complejidad y a su bajo rendimiento en condiciones reales. Además, estas tecnologías generan una elevada cantidad de lodos altamente tóxicos y difíciles de tratar (Cuizano & Navarro, 2008). Para la remoción de plomo se puede

aplicar la bioabsorción, es decir la utilización de tratamientos eficientes y menos costosos para remover y recuperar contaminantes del suelo, agua y gases. El contaminante es removido de forma activa y pasiva. Así, para eliminar metales pesados de aguas residuales, generalmente se utiliza biomasa microbiana fácilmente disponible, a partir de otros residuos contaminados, lo cual explica su potencial de adaptación a elementos presentes en el ambiente.

La bioabsorción representa una alternativa tecnológica eficiente y económicamente viable, pues se trata de un proceso rápido que permite tratar grandes volúmenes de agua con bajas concentraciones del metal. Por lo descrito, la obtención y caracterización de bacterias nativas para remoción de plomo servirá de base para posteriores investigaciones en el tratamiento de ambientes acuáticos contaminados con iones metálicos. En el Perú no existen tecnologías adecuadas que permitan resolver la contaminación de ambientes acuáticos por metales pesados, ni tampoco en la región Lambayeque se ha investigado la eficiencia de bacterias nativas en la remoción de plomo de efluentes contaminados.

Por lo expuesto, se planteó el siguiente problema: ¿Cuál es la eficiencia de la remoción de plomo en agua residual sintética por bacterias aisladas del Dren 4000 en Lambayeque? Para resolver este problema se planteó como objetivo general determinar la eficiencia de la remoción de plomo en agua residual sintética por bacterias del Dren 4000 en Lambayeque. Los objetivos específicos fueron: aislar bacterias con resistencia natural al plomo de aguas residuales del Dren 4000 en Lambayeque, adaptar las bacterias nativas a concentraciones crecientes de plomo; seleccionar e identificar las tres bacterias nativas con resistencia a la mayor concentración de plomo y determinar la eficiencia de remoción de plomo. La hipótesis planteada fue: Las bacterias aisladas del Dren 4000 en Lambayeque alcanzan una eficiencia mayor de 60% en la remoción de plomo en agua residual sintética.

II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

a. Antecedentes de la investigación

La relación contaminante-microorganismo origina una serie de procesos adaptativos que se expresan como mecanismos de resistencia al contaminante. En este contexto, se investigó la resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de una bahía. Se colectaron muestras de agua en estaciones cercanas a descargas de efluentes domésticos e industriales y se sembraron en agar R2A y agar ENDO-C, incubando a 20°C, por 5 días. Se seleccionaron aleatoriamente 43 colonias y se investigó la resistencia a 3200; 1600; 800; 400 y 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de As^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} y Pb^{2+} . El 100% de las bacterias fue resistente al As^{3+} y Pb^{2+} ; 77,7% al Cu^{2+} y 36,42 al Ni^{2+} . A su vez, todas las bacterias presentaron multiresistencia a la ampicilina, amikacina, cefomax, cefotaxima y nitrofurantoína, evidenciándose una vinculación entre la resistencia a metales pesados y antibióticos, que fue superior a 50% para Pb^{2+} , As^{3+} , Cu^{2+} y Ni^{2+} (Moraga *et al.*, 2003).

Con el objetivo de encontrar especies vegetales y microorganismos rizosféricos tolerantes a metales, se investigaron suelos con vertimientos

residuales de producción de cerámicas. Por su elevada concentración en el suelo (mg Kg^{-1} de materia seca) se determinó que los contaminantes fueron plomo (104 288,3) y zinc (9 536,7). Estos metales se detectaron en hojas y raíces de *Cynodon dactylon*, *Cyperus giganteus*, *Typha dominguensis* y *Xanthosoma cubense*, considerándose a *C. dactylon* hiperacumuladora de plomo. En esta maleza se colectó suelo rizosférico, se diluyó y sembró en agar nutritivo, Sabouraud Dextrosa y almidón amoniacal. Se aislaron 36 morfotipos de bacterias, cuatro hongos y dos actinomicetos, determinándose que el 33% de las bacterias toleró 0,5-2,0 mM de PbCl_2 y ZnCl_2 , considerándose promisorias para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados (Sánchez, 2008).

La absorción de metales con biomasa fúngica es atractiva, debido a la posibilidad de obtener biomasa en los residuos de los procesos industriales. La biosorción de plomo por biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*, esterilizada, no viable, fue estudiada en términos del efecto del pH y la temperatura, para determinar las condiciones óptimas en la remoción del catión metálico. En frascos de polipropileno se depositaron 150 mL de una solución de plomo (500, 700 y 1000 ppm) y el pH se ajustó a 5,0. Después, se adicionaron 0,15 g de biomasa, manteniendo los frascos en agitación constante (200 rpm) a 25°C. Durante 4 horas se tomaron muestras y se determinó la concentración del metal, mediante un espectrofotómetro de absorción atómica con las longitudes de onda: 261,4 para 5 a 800 ppm y 283,3 para 0,5 a 50 ppm de plomo. Se determinó que a pH 5,0 y 25°C la capacidad máxima (q_{max}) biosorbente de la levadura fue de 0,5 g de Pb g^{-1} de biomasa y el 100% del plomo en solución fue retenido por la biomasa cuando la relación C_i/X_o fue menor a 0,25 (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Se investigaron los efectos de las condiciones de operación sobre la biosorción de Pb^{2+} , Cd^{2+} y Cr^{3+} por biomasa de levaduras. Ésta se separó, se lavó tres veces con agua desionizada y posteriormente se filtró y secó a 106 °C por 24 horas. Después, se obtuvieron dos suspensiones con 2 y 5 g L^{-1} de biomasa sin lavar y lavada. Las soluciones de metales se prepararon disolviendo las sales $\text{CrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ cada una por separado en soluciones stock y se combinaron posteriormente para obtener 50 y 80 ppm de

cada metal. El pH fue ajustado a 3 y 5. Las pruebas de biosorción se realizaron a 30 °C, en agitación constante por 24 horas y después se determinaron las concentraciones por espectroscopía de absorción atómica. A pH 5,0 los porcentajes de extracción de Cr³⁺ y Pb²⁺ fueron de 47 y 56 % respectivamente. A pH 3,0 la retención fue menor para todos los metales. A su vez, la afinidad del Cd²⁺ hacia la levadura fue mínima, concluyéndose que la presencia de co-iones electrolíticos interfiere en su adsorción (Rodríguez *et al.*, 2008).

La presencia de metales pesados en lodos ribereños procedentes de residuos industriales, influencia la calidad de los suelos, habiéndose encontrado mínimas concentraciones de Cr²⁺, Pb²⁺ y Hg²⁺ en vegetales de consumo humano. En esta zona se tomaron muestras de suelo y lodos y se mezclaron con el agente disgregante pirofosfato de sodio Na₄P₂O₇·10H₂O al 0,1 % en una relación 2,5 volumen peso⁻¹. Los recipientes se agitaron y luego se cuantificaron los metales y se aislaron las bacterias presentes. Después, éstas se sembraron en matraces con medio de cultivo suplementado con Cr²⁺, Pb²⁺ y Hg²⁺, para seleccionar las bacterias tolerantes y transformadoras. En las muestras se encontró más de 0,005 mg de Cr⁶⁺ L⁻¹, más de 0,049 mg de Pb L⁻¹ y más de 0,001 mg de Hg L⁻¹, identificándose *Corynebacterium genitalium*, *C. diptheriae*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus sedentarius*, *Aeromonas hydrophila*, *Pantoea agglomerans* y *Pseudomonas* spp. A su vez, después del enriquecimiento selectivo con los metales, predominó *Micrococcus* frente a otras bacterias (Soto *et al.*, 2010).

Los metales pesados contaminan los mantos acuíferos y el suelo, requiriéndose de bacterias con capacidad para tolerarlos y acumularlos, como una alternativa para la biorremediación. En el presente estudio se aislaron bacterias de suelos contaminados con hidrocarburos, identificándose *Pseudomonas putida*, *P. mendocina*, *Burkholderia cepacia* y *Chromobacterium violaceum*. Para el proceso de biosorción se prepararon soluciones con 50 y 100 ppm de Cr, Pb y As y se agregaron 2 mL del inóculo bacteriano estandarizado a 10⁶ cel mL⁻¹. Después de 7 días, a 25 °C, las soluciones se centrifugaron a 1500 rpm durante 30 minutos y el sedimento

celular se sometió a una digestión ácida total y parcial para determinar la concentración de los metales pesados por absorción atómica. La mayor adsorción de As se alcanzó con *P. mendocina*, de Cr con *B. cepacia* y *Chromobacterium violaceum* y de Pb con *P. putida* y *P. mendocina*. El metal con mayor acumulación (50–80 ppm) fue el plomo (Mendoza *et al.*, 2010).

En la búsqueda de especies microbianas con potencial para procesos de biorremediación se colectaron muestras de pilas de compostaje de residuos vegetales, lodos de depuradora desecados y residuos sólidos urbanos. Con las muestras se realizaron tres pases consecutivos en caldo nutritivo con 50 ppm de Cd^{2+} , Cr^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} y luego se sembraron en medio sólido, obteniéndose 28 bacterias y 23 hongos tolerantes a la mezcla de metales pesados. Se seleccionaron cinco bacterias por su capacidad para retirar más del 60% de la concentración inicial de los metales pesados, especialmente el plomo, cuya concentración remanente no fue superior a 2,5 ppm, frente a la inicial de 50 ppm. El mecanismo predominante de eliminación fue de adsorción superficial, así como también se determinó eficacia como biosorbente de la biomasa no viable (López, 2011).

Se realizó una investigación para determinar el efecto del Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} sobre dos cepas de *Lactobacillus kefir* en condiciones de crecimiento (tolerancia) y no- crecimiento (biosorción). Las bacterias se cultivaron en caldo MRS diluido a la mitad de su concentración inicial con los cationes Pb^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} (0,02 - 10 mM) y en el caso del Cd^{2+} (0,002 - 1 mM). El Pb^{2+} retardó el crecimiento para ambas bacterias, sin cambios representativos en la biomasa después de 76 horas de cultivo con 10 mM. El Zn^{2+} (2,5 mM) y Ni^{2+} (2,5-5 mM) fueron tolerados, sin disminución de la biomasa. La micrografía electrónica de transmisión determinó la presencia de plomo en la superficie bacteriana evidenciándose la biosorción de este catión metálico. Después, se investigó la capacidad de adsorción de los metales en condiciones de no crecimiento, registrándose un rango de remoción de 20-40 % (Esteban, 2013).

b. Base teórica

Metal pesado es todo elemento de naturaleza metálica con potencial para dañar el medio ambiente y elevada capacidad de resistencia a la biodegradación. Metales como el cobre, níquel y zinc, a muy bajas concentraciones son esenciales para la vida porque desempeñan un rol importante en los procesos metabólicos que acontecen en las células vivas; sin embargo, a niveles elevados estos metales son tóxicos para la mayoría de organismos procariotas y eucariotas. A su vez, metales como el cadmio, plomo y mercurio son no esenciales, es decir no cumplen alguna función biológica y son conocidos por causar diversos daños en organismos aún a muy bajas concentraciones (Richmond, 2004; Mejía, 2006).

Los metales pesados son considerados a nivel mundial como los contaminantes inorgánicos más importantes que pueden ser depositados en todo tipo de ecosistemas, siendo los recursos hídricos los de mayor riesgo, por su alta velocidad de propagación. No son biodegradables, lo cual permite su bioacumulación y biomagnificación en la naturaleza. Algunos metales pesados como el mercurio, cobre, plomo, cadmio, zinc y níquel están entre los contaminantes más comunes presentes en efluentes industriales y son tóxicos para los organismos, incluyendo los humanos (Sheng *et al.*, 2004).

El plomo es un metal perteneciente al grupo IV y periodo 6 de la tabla periódica con número atómico 82, masa atómica 207,2, densidad $11,4 \text{ g cm}^{-3}$ y punto de fusión de $327,4 \text{ °C}$ (Wuana y Okieimen, 2011). Se considera como metal pesado y se ha convertido en el contaminante ambiental más importante, como resultado de su extracción de canteras, por actividades de fundición, pinturas, gasolina y explosivos que contienen plomo, así como de la eliminación de aguas residuales enriquecidas con dicho metal (Yang & Pan, 2002). Las formas más comunes del plomo en el suelo, agua subterránea y aguas superficiales son los complejos oxianiónicos, óxidos e hidróxidos de plomo así como su forma iónica (Pb^{+2}), siendo estas dos últimas las configuraciones más estables; sin embargo, los fosfatos, carbonatos e hidróxidos de plomo son los compuestos insolubles más predominantes (Henry, 2000).

En el Perú, la empresa Cerro de Pasco Corporation (CPC) inició en 1956 sus actividades extractivas a tajo abierto para la explotación del cobre y en 1963 desarrolló también la explotación de zinc y plomo. Entre 1996 y 2006, estudios independientes realizados por el Ministerio de Salud del Perú (MINSA) y el Instituto Nacional de Salud (INS) determinaron que 53 % de niños y 9% de mujeres en edad fértil tenían plomo en la sangre en niveles mayores a $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ (Ramos *et al.*, 2004). A su vez, en el Callao, se ubican los depósitos de minerales de la Corporación de Minerales (CORMIN), conteniendo plata y zinc, así como también residuos que frecuentemente presentan alto contenido de plomo como contaminante (Ramos *et al.*, 2009). Según la Dirección General de Salud (DIGESA), los niños que acuden a los colegios cercanos al área de tratamiento registran una media de $40,7 \text{ mg dL}^{-1}$ de plomo en sangre, mientras que en los niños de otras escuelas el nivel es de $7,5 \text{ mg dL}^{-1}$, concluyéndose que el vivir o estudiar cerca de los depósitos de plomo aumenta en casi 18 veces el riesgo de tener niveles elevados de plomo en la sangre (Hernández & Wegner, 2002).

Las interacciones metal-microbiota son investigadas en el contexto de la biotecnología ambiental, con el objeto de implementar métodos de remoción, recuperación o detoxificación de metales pesados y radionucleótidos. Dependiendo del estado de oxidación de un metal y la especie que esté conformando, un microorganismo puede realizar dos transformaciones posibles. Una corresponde a la movilización del metal, es decir el pasaje de un estado insoluble inicial (metales asociados a suelos, sulfuros u óxidos metálicos) correspondiente a una fase sólida, a un estado soluble final, en fase acuosa. Este proceso se conoce con el nombre de lixiviación microbiana. El otro, corresponde a la inmovilización del metal, es decir el pasaje de un estado soluble inicial en fase acuosa a uno insoluble final en fase sólida. A su vez, existen en la naturaleza diferentes mecanismos por los cuales la inmovilización del metal puede llegar a ocurrir. Uno de los métodos de corrección biológica que se utiliza en la actualidad es la biorremediación (Rittmann&McCarty, 2001).

Según la Environmental Protection Agency (EPA), la biorremediación se define como los procesos en los que se usan los microorganismos o sus enzimas para transformar o degradar contaminantes tóxicos en los ecosistemas. Esta estrategia biológica depende de las propiedades catabólicas que presentan los microorganismos para utilizar los contaminantes en su desarrollo. Los contaminantes que se liberan en las superficies pueden ser transportados vertical y lateralmente a los suelos y aguas y eventualmente pueden ser inhalados o ingeridos a través de aguas para el consumo humano. Además, pueden ser absorbidos por plantas y tejidos animales. Estos contaminantes son llamados también xenobióticos, término que se refiere a las sustancias artificiales que no pertenecen a los sistemas biológicos naturales (Coyne, 2000).

En la absorción microbiana, llamada bioacumulación, las especies metálicas son efectivamente retenidas al interactuar con los fosfatos, proteínas y lípidos en el citoplasma celular, compitiendo con los iones sodio, potasio y calcio en los mecanismos biológicos. Las posibilidades de desarrollar una mayor capacidad absorbente dependen del tipo de microorganismo y su etapa de crecimiento (Flores *et al.*, 2001).

El término “biosorción”, se utiliza para referirse a la captación de metales que lleva a cabo una biomasa completa (viva o muerta), a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico. Cuando se utiliza biomasa viva, los mecanismos metabólicos de captación también pueden contribuir en el proceso. El proceso de biosorción involucra una fase sólida (sorbente) y una fase líquida (solvente, que es normalmente el agua) que contiene las especies disueltas que van a ser sorbidas (sorbato, iones metálicos). Debido a la gran afinidad del sorbente por las especies del sorbato, este último es atraído hacia el sólido y enlazado por diferentes mecanismos. Este proceso continúa hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido (a una concentración final o en el equilibrio). La afinidad del sorbente por el sorbato determina su distribución entre las fases sólida y líquida. La calidad del sorbente está dada por la cantidad del sorbato que puede atraer y retener en forma inmovilizada (Cañizares, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Material biológico

Bacterias resistentes al plomo aisladas de aguas residuales.

3.1.2 Población y muestra de estudio

La población estuvo constituida por las bacterias resistentes al plomo de las aguas residuales vertidas en el Dren 4000 y se investigaron las bacterias aisladas de 54 unidades de muestreo colectadas durante noviembre a diciembre del 2013. El número de muestras fue calculado (Alvitres, 2000), tomando en cuenta una prevalencia de 90 % (Anexo 1) determinada en un muestreo piloto por los investigadores.

3.2 Métodos

3.2.1 Variables en estudio

Variable independiente: Bacterias aisladas del Dren 4000.

Variable dependiente: eficiencia de la remoción de plomo.

3.2.2 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

El trabajo de investigación fue descriptivo y se ejecutó en dos fases. En la primera fase se aislaron y seleccionaron las bacterias resistentes al plomo. En la

segunda fase las bacterias se adaptaron a concentraciones crecientes de plomo, se seleccionaron e identificaron las tres bacterias con la mayor concentración de biomasa y se determinó la eficiencia de la remoción de plomo. En ambas fases, se utilizó un diseño no experimental transeccional (Hérendez *et al.*, 2003) y para contrastar la hipótesis el diseño de una sola casilla en la primera fase y el de sucesión o línea en la segunda fase (Alvitres, 2000).

3.2.3 Primera fase: Aislamiento de bacterias resistentes al plomo

a) Lugar de muestreo

El muestreo se realizó en la desembocadura de los tres subcolectores que vierten aguas residuales en un sector del recorrido del Dren 4000, ubicado a la altura del kilómetro 764 en la carretera Panamericana Norte, Chosica del Norte, región Lambayeque (Figura 1), determinándose la posición de los puntos de muestreo (Tabla 1, figura 2) con un GPS GARMIN e Trex Vista HCx. Los subcolectores (Figuras 3, 4, 5) denominados A, B y C corresponden al Grupo Comercial Bari S.A., destiladora Chiclayo SAC y sector Chosica del Norte respectivamente (Guerrero, 2006).

b) Acondicionamiento de biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente

Se acondicionaron seis biorreactores (Figura 6) tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente, constituidos por frascos de 1 L de capacidad y ajustados a la geometría y proporciones de un biorreactor estándar según Hurtado y Guzmán, 2011 (Figuras 7, 8). El extremo superior de cada biorreactor estuvo cubierto por una tapa de goma que presentó dos orificios. A través del primer orificio ingresó una cánula de plástico llevando aire insuflado (1 vvm) por una compresora de aire Elite 803 de 4 watts y esterilizado por un sistema de burbujeo en cloruro de sodio al 30 %. Por el segundo orificio ingresó una cánula taponada en su extremo superior con algodón para permitir la salida de gases. Los frascos de vidrio se esterilizaron en horno (180 °C por 2 horas), el material de plástico y goma se sumergió en hipoclorito de sodio al 5% durante 30 horas y posteriormente fueron irradiados con luz ultravioleta por 0,5 horas.

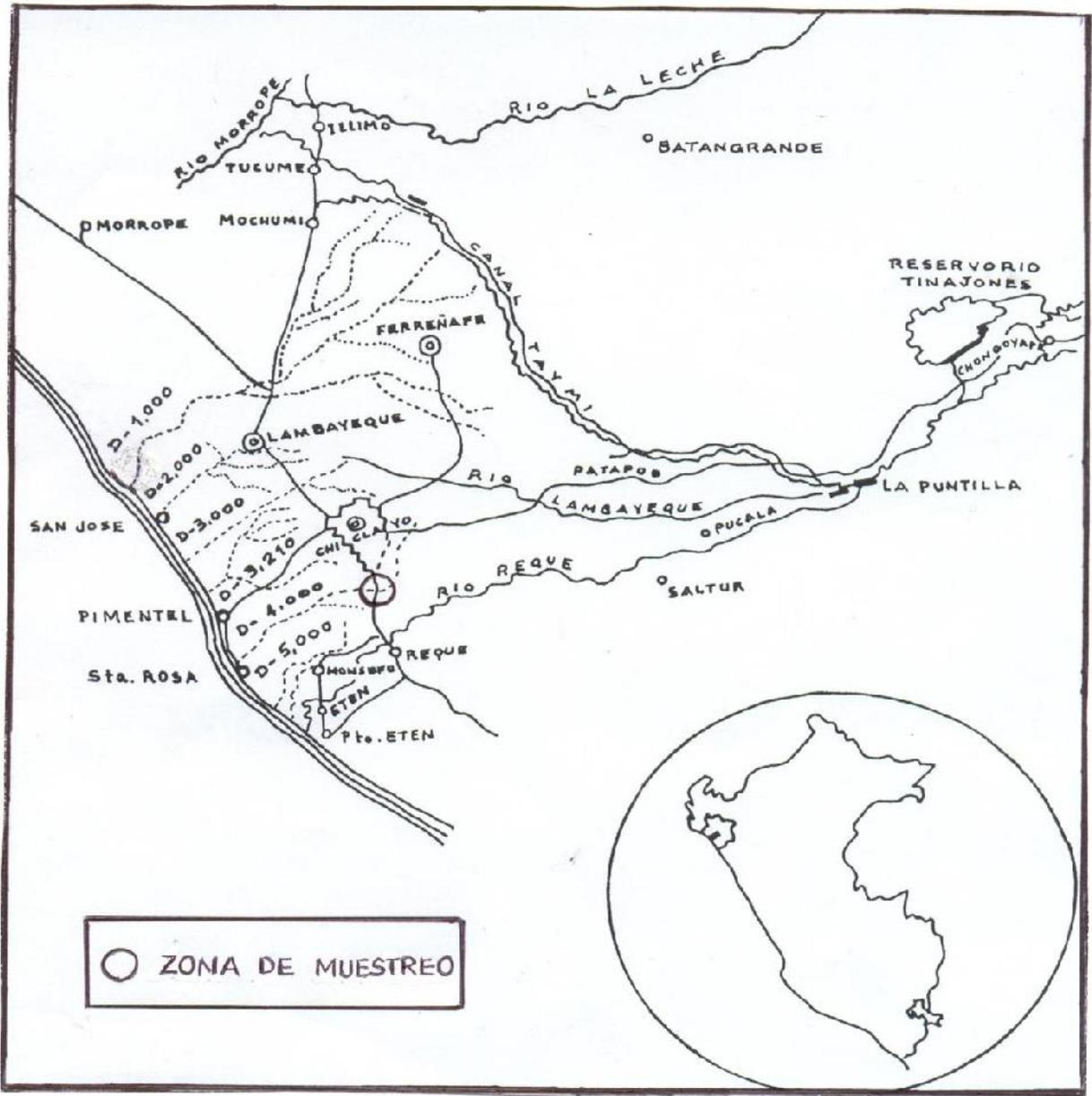


Figura 1. Ubicación de la zona de muestreo, correspondiente a un sector del recorrido del Dren 4000, km 764 de la carretera Panamericana Norte en Lambayeque, 2013.

Tabla 1. Posición de los puntos de muestreo de aguas residuales vertidas al dren 4000 de Lambayeque, durante noviembre a diciembre de 2013

Subcolector	Punto	Posición	(UTM) – 17M	msnm
A	148	0628796	9245028	29
B	149	0628368	9245173	29
C	150	0627610	9245434	27

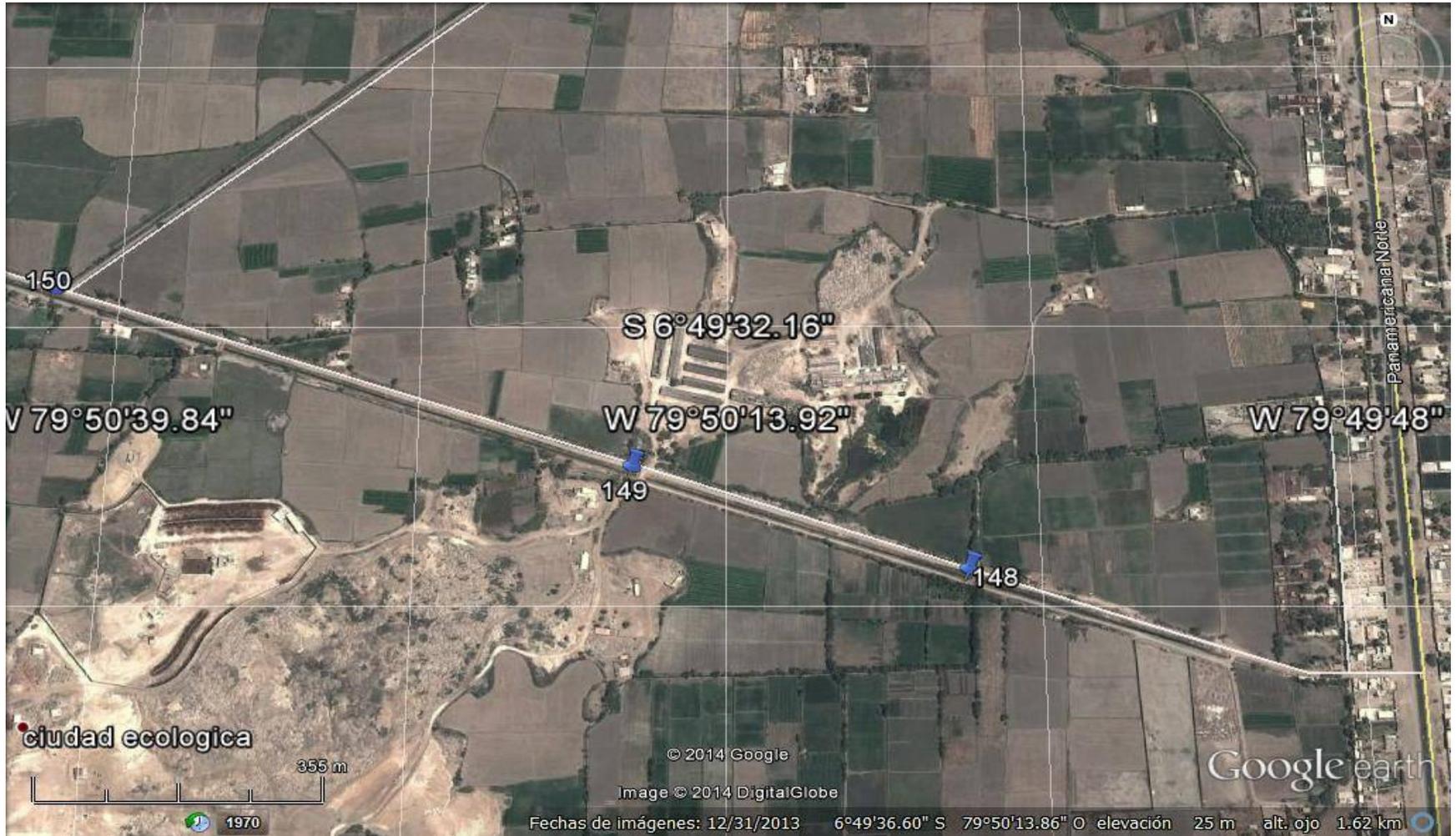


Figura 2. Ubicación de los puntos de muestreo de aguas residuales durante noviembre a diciembre de 2013.



Figura 3. Desembocadura del subcolector A que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque.



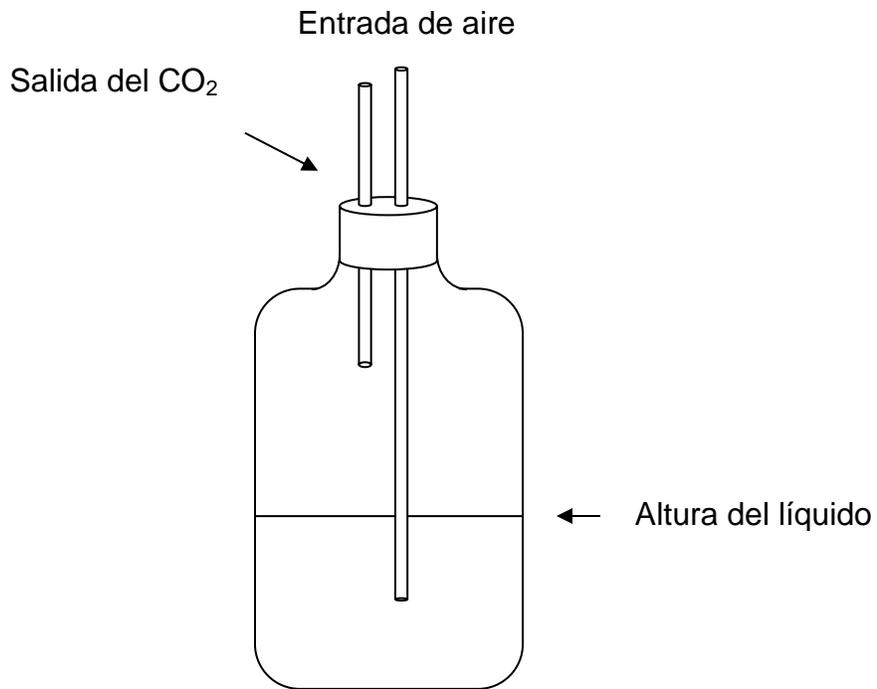
Figura 4. Desembocadura del subcolector B que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque.



Figura 5. Desembocadura del subcolector C que vierte sus aguas residuales al dren 4000 de Lambayeque



Figura 6. Biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.



PROPORCIONES

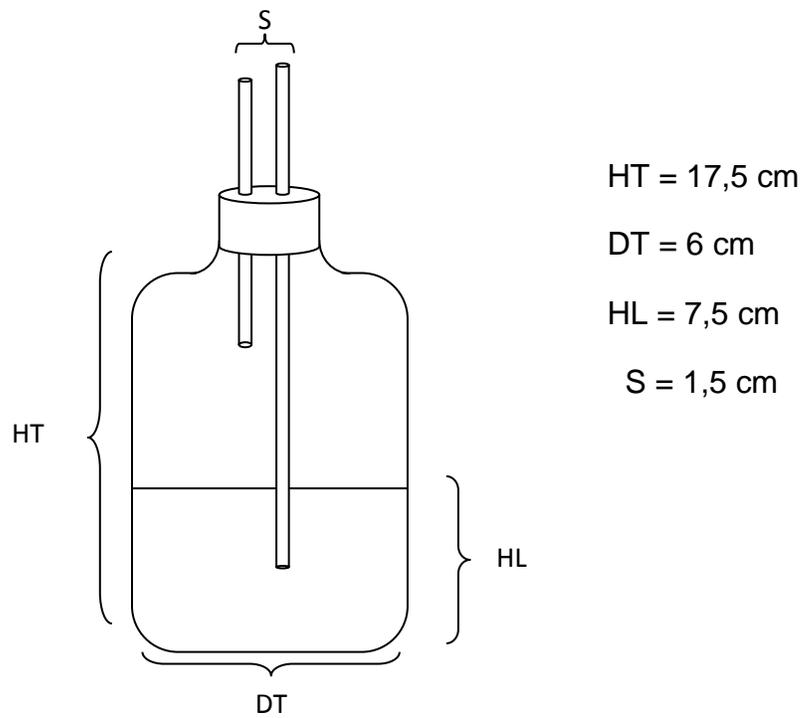


Figura 7. Diseño de biorreactor tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.

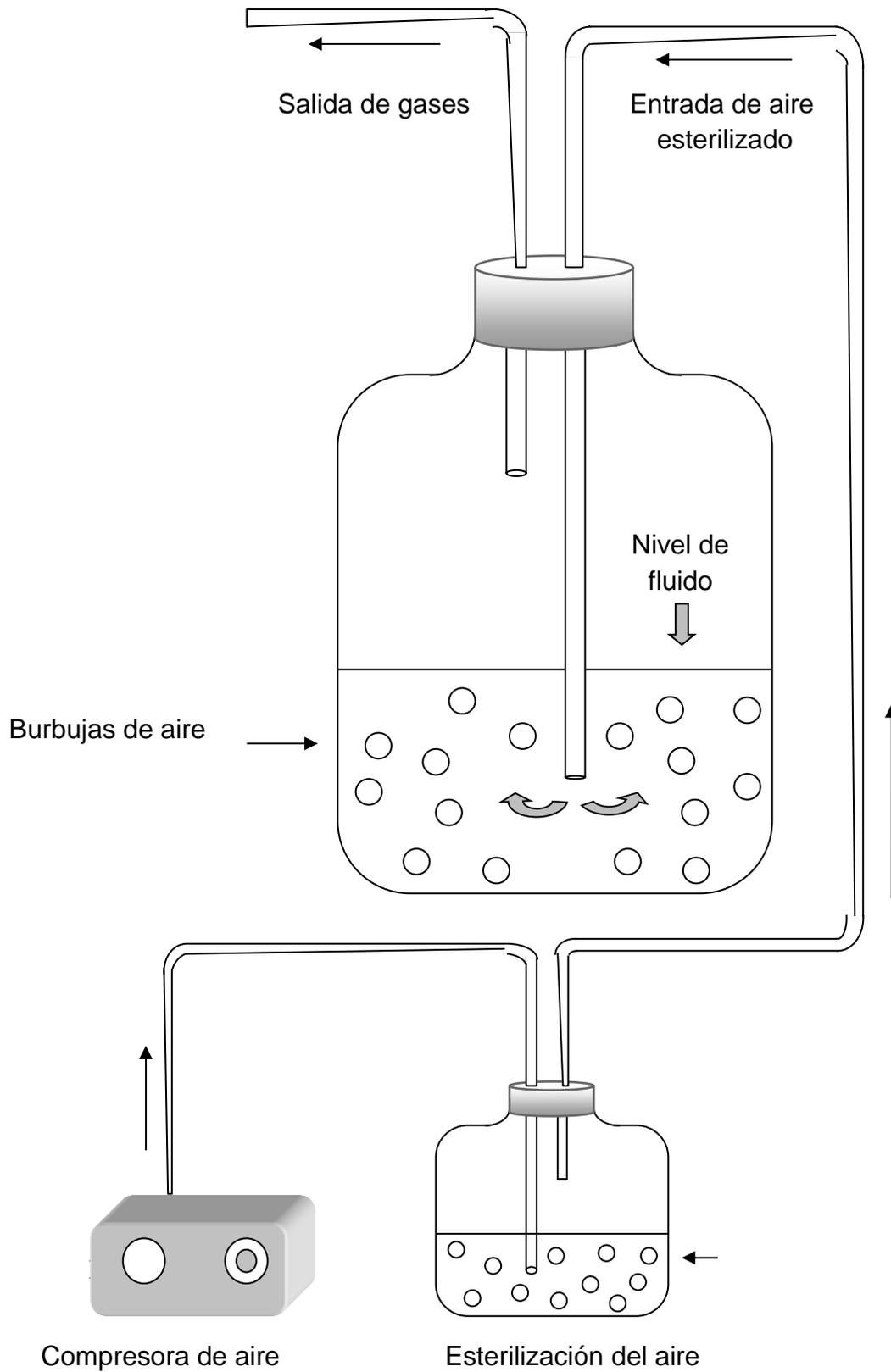


Figura 8. Modo de operación de biorreactor tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente.

c) Obtención y enriquecimiento de las bacterias

Las muestras de aguas residuales en cantidad de 100 mL fueron colectadas en la superficie de los subcolectores seleccionados y fueron depositadas en frascos de boca ancha (Figura 9), previamente esterilizados e inmediatamente fueron llevadas para su procesamiento al laboratorio de Microbiología y Parasitología, sección Biotecnología en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Posteriormente, en cada biorreactor se depositaron 45 mL de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) suplementado con 2,5 mL de una disolución de nitrato de plomo: $Pb(NO_3)_2$ tal que la concentración final del catión metálico fue de 50 ppm ó 50 mg L^{-1} (Figura 10, anexos 2,3). Para el enriquecimiento de las bacterias según Guerrero (2006), 5 mL (10%) de cada muestra de agua residual fueron inoculados en los biorreactores (Figura 11) y se incubaron a temperatura ambiente (30°C) por 72 horas, con 10 minutos de agitación diaria, dos veces al día.

d) Aislamiento de bacterias con resistencia natural al plomo

De cada muestra de agua residual con bacterias enriquecidas se tomó una alícuota y se sembró por agotamiento y estría en agar infusión Cerebro Corazón suplementado con 50 ppm de plomo. Transcurridas 48 horas de incubación, a 30°C , se seleccionaron las colonias (Figura 12) y se cultivaron por dos veces consecutivas en el mismo agar, para eliminar los contaminantes que podrían desarrollar en los restos de materia orgánica del agua residual (Guerrero, 2006). Las colonias obtenidas constituyeron los cultivos puros de bacterias resistentes al plomo, que fueron caracterizadas según su morfología macroscópica y microscópica (Brenner *et al.*, 2004).

e) Calificación del crecimiento de bacterias resistentes al plomo

Las bacterias resistentes al plomo fueron sembradas en agar infusión Cerebro Corazón con 50 ppm de plomo, se incubaron a 30°C por 48 horas y según el número de unidades formadoras de colonias (UFC) o el porcentaje de agar colonizado se calificó el crecimiento bacteriano con una escala convencional propuesta por Guerrero, 2006 (Figura 13).



Figura 9. Obtención de muestra de agua residual.



Figura 10. Caldo Infusión Cerebro Corazón suplementado con nitrato de plomo.



Figura 11. Inoculación de agua residual en caldo Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo.

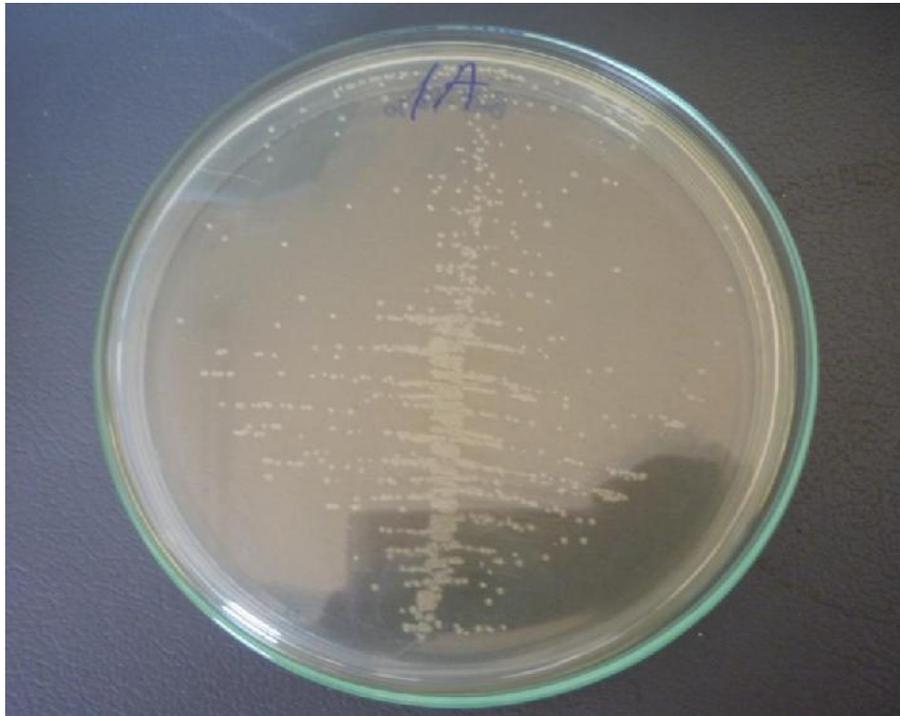


Figura 12. Colonias de bacterias desarrolladas en agar Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo.

Crecimiento bacteriano	Número de UFC	Agar con desarrollo bacteriano (%)
+	1-10	1-20
++	11-50	21-50
+++	Más de 50	Más de 50

Figura 13. Escala convencional para la calificación del crecimiento de bacterias resistentes al plomo.

f) Mantenimiento de bacterias resistentes al plomo

Las bacterias resistentes al plomo (Figura 14), fueron cultivadas en agar infusión Cerebro Corazón con 50 ppm de plomo durante 24 horas y luego fueron mantenidas en refrigeración (8°C), realizándose subcultivos cada 30 días.

3.2.4 Segunda fase: Adaptación de bacterias a concentraciones crecientes de plomo y determinación de la eficiencia de remoción de plomo

a) Adaptación de bacterias a concentraciones crecientes de plomo

Para la adaptación a concentraciones crecientes de plomo según Chambergó & Herrera (2009), las bacterias nativas seleccionadas fueron sembradas en biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente, conteniendo 500 mL de agua residual, suplementada con 100 ppm de plomo (Anexo 3). Después de incubar a 30 °C, se tomaron alícuotas de los biorreactores con crecimiento bacteriano, denotado por turbidez y el proceso de adaptación se repitió en agua residual suplementada con concentraciones crecientes de plomo: 200, 300, 400, 500 y 600 ppm (Anexo 4), seleccionándose las tres bacterias que alcanzaron la mayor absorbancia a 600 nanómetros, con la mayor concentración de metal.

b) Cuantificación de la biomasa por turbidimetría

Para obtener el inóculo según Hurtado & Guzmán (2011), las tres bacterias resistentes al plomo seleccionadas, fueron sembradas por triplicado en agua residual suplementada con 600 ppm de plomo y fueron incubadas a 30 °C, con aireación constante (1 vvm), hasta alcanzar 10^8 cel mL^{-1} , concentración que se determinó por nefelometría. A continuación, 5 mL de cada inóculo se depositaron en biorreactores con 500 mL de agua residual suplementada con 600 ppm de plomo y se incubaron a 30 °C. Después de 10 horas, se tomaron submuestras de 2 mL, cada 2 horas para leer la absorbancia por espectrofotometría a 600 nm y determinar el tiempo óptimo de incubación o tiempo después del cual la concentración celular ya no se incrementó.



Figura 14. Cultivos de bacterias en agar Infusión Cerebro Corazón - nitrato de plomo.

Transcurrido el tiempo óptimo de incubación, se tomaron muestras de 5 mL de los caldos cultivados y se determinó su absorbancia (Tubo 1). Luego, se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-3} , determinándose también su absorbancia a 600 nm (Tubos 2, 3, 4). El volumen restante de los caldos retirados se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. El sedimento o biomasa obtenida se lavó con agua destilada dos veces y se deshidrató a 40 °C, hasta alcanzar peso constante, determinándose posteriormente el peso de la biomasa deshidratada (mg L^{-1}) que correspondió a la absorbancia del tubo 1. Después, el peso se dividió entre 10, 100 y 1000, correspondiendo los valores obtenidos a la absorbancia de los tubos 2, 3 y 4: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} (Figura 15). Con los valores registrados se obtuvo la ecuación de regresión, calculando el coeficiente de determinación R^2 , que resultó ser mayor de 0,9 y que demostró una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

c) Selección e identificación de bacterias resistentes al plomo

Considerándose la biomasa, como una medida indirecta del plomo removido, para la siguiente prueba, se seleccionaron las bacterias (Figura 16) que alcanzaron la mayor concentración de biomasa, en el menor tiempo posible. Estas bacterias fueron identificadas mediante las pruebas convencionales de citocromo oxidasa, motilidad, óxido-fermentación de la glucosa, manitol, maltosa y lactosa, descarboxilación de la arginina, ornitina y lisina, hidrólisis de la esculina y la gelatina y la sensibilidad a la polimixina B y penicilina (Brenner *et al.*, 2004).

d) Cinética de la remoción de plomo

Las bacterias seleccionadas fueron inoculadas (5%) por triplicado en biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente (1 vvm), conteniendo 500 mL de agua residual con la concentración de plomo y en tiempo previamente determinados. Al inicio y al final del bioproceso, se determinaron las concentraciones (mg L^{-1}) de plomo (S) y de la biomasa (X). Se incluyó un control con células bacterianas inactivadas en autoclave a 121 °C, por 15 minutos.

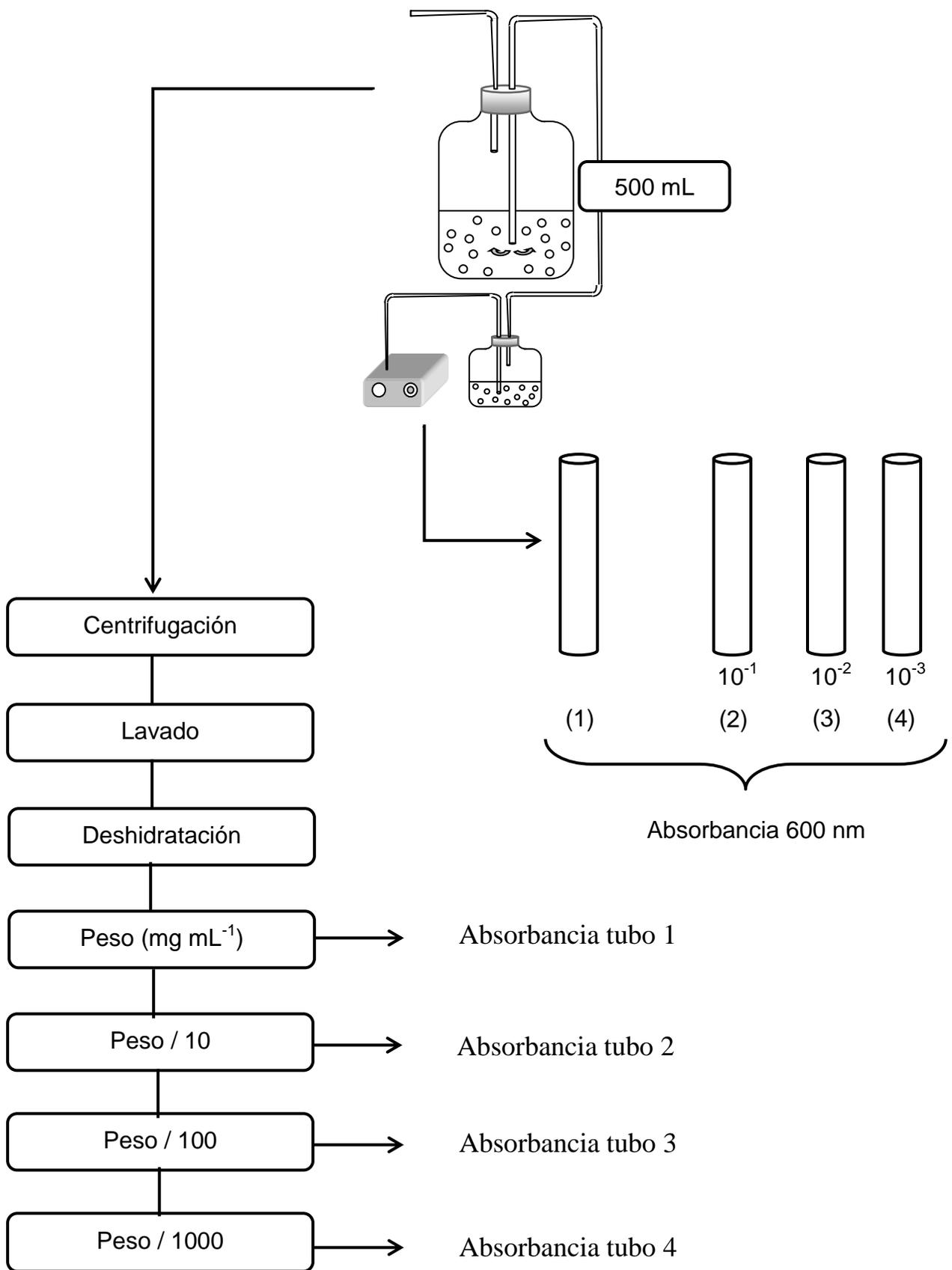


Figura 15. Flujo grama para la cuantificación de la biomasa por turbidimetría.

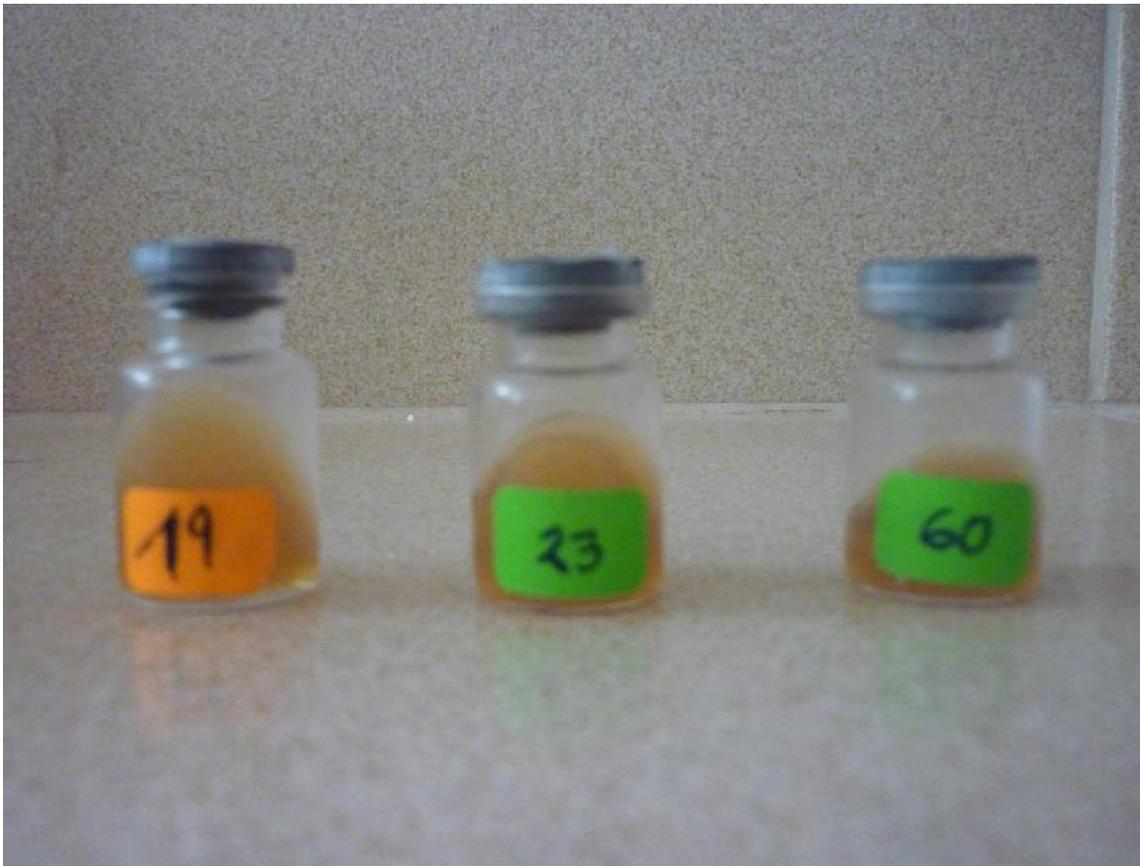


Figura 16. Cultivos de bacterias resistentes al plomo seleccionadas.

La concentración de plomo se cuantificó en el laboratorio de Análisis físico-químico de la Empresa Prestadora de Servicios de Saneamiento de Lambayeque (EPSEL).

e) Eficiencia de la remoción de plomo por bacterias nativas

La eficiencia de la remoción de plomo por las bacterias nativas se calculó mediante la fórmula mencionada por Hurtado & Guzmán (2011).

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100$$

Donde:

C_i = concentración inicial de plomo

C_f = concentración final

f) Análisis de los datos

Los datos obtenidos fueron ordenados en tablas y figuras, que permitieron determinar la eficiencia en la remoción del plomo por las bacterias nativas. Se utilizaron los programas Microsoft Office Word 2010 y Microsoft Office Excel 2010.

IV. RESULTADOS

4.1. Bacterias con resistencia natural al plomo aisladas

El 100% de muestras de agua residual resultaron positivas al enriquecimiento con plomo, observándose turbidez y película en cada uno de los biorreactores después de 48 horas de incubación, a 30°C (Figura 17). En el aislamiento se obtuvieron 475 cultivos puros de bacterias resistentes a 50 ppm de plomo, entre los que 73% correspondió a bacterias Gram negativas y 27% a bacterias Gram positivas (Figura 18). En las bacterias Gram positivas predominaron (27,34%) las colonias pequeñas, cremosas, convexas con bordes enteros (Tabla 2, anexo 5). En las bacterias Gram negativas, las colonias medianas, cremosas, convexas con bordes enteros fueron las más frecuentes, alcanzando 23,34% (Tabla 3, anexo 5).

Con base al crecimiento bacteriano o número de colonias desarrolladas en agar infusión cerebro corazón con 50 ppm de plomo las bacterias fueron calificadas en tres grupos (Figura 19, anexo 6), correspondientes a 45% con 1-10 colonias (+), 13% con 11-50 colonias (++) y 42% con más de 50 colonias (+++).



Figura 17. Muestras de agua residual con bacterias enriquecidas con plomo en biorreactores tipo tanque, con flujo de aire descendente.

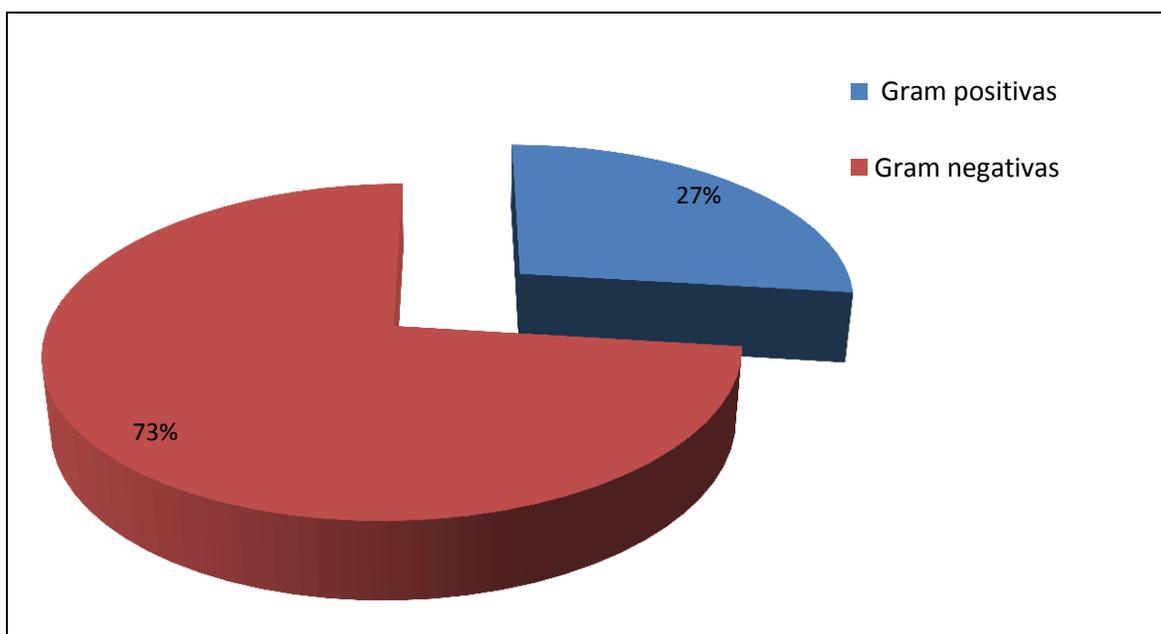


Figura 18. Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas resistentes al plomo aisladas de muestras de agua residual en Lambayeque, 2013.

Tabla 2. Características macroscópicas de las colonias de bacterias Gram positivas resistentes al plomo aisladas de aguas residuales en Lambayeque, 2013

Colonia					
Tamaño	Color	Elevación	Borde	Cultivos puros	
				N°	%
Grande	Cremosa	Convexa	Entero	13	10,16
Grande	Translúcida	Plana	Entero	1	0,78
Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	3	2,34
Grande	Blanca	Convexa	Irregular	3	2,34
Grande	Blanca	Convexa	Entero	11	8,59
Grande	Translúcida	Convexa	Entero	2	1,56
Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	27	21,09
Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	1	0,78
Mediana	Blanca	Convexa	Entero	13	10,16
Mediana	Translúcida	Convexa	Irregular	1	0,78
Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	2	1,56
Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	4	3,12
Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	35	27,34
Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	4	3,12
Pequeña	Cremosa	Convexa	Irregular	1	0,78
Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	4	3,12
Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	2	1,56
Pequeña	Blanca	Plana	Entero	1	0,78

Tabla 3. Características macroscópicas de las colonias de bacterias Gram negativas resistentes al plomo aisladas de aguas residuales en Lambayeque, 2013

Colonia					
Tamaño	Color	Elevación	Borde	Cultivos puros	
				N°	%
Grande	Creмосa	Convexa	Entero	27	7,78
Grande	Translúcida	Plana	Entero	1	0,29
Grande	Creмосa	Convexa	Irregular	7	2,02
Grande	Blanca	Convexa	Irregular	2	0,58
Grande	Blanca	Convexa	Entero	32	9,22
Grande	Translúcida	Convexa	Entero	5	1,44
Grande	Blanca	Plana	Irregular	1	0,29
Grande	Translúcida	Convexa	Irregular	1	0,29
Grande	Translúcida	Convexa	Entero	1	0,29
Grande	Blanca	Plana	Entero	1	0,29
Grande	Roja	Convexa	Entero	26	7,49
Grande	Roja	Convexa	Irregular	4	1,15
Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	81	23,34
Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	7	2,02
Mediana	Blanca	Convexa	Entero	30	8,64
Mediana	Creмосa	Convexa	Irregular	8	2,30
Mediana	Translúcida	Convexa	Irregular	1	0,29
Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	9	2,59
Mediana	Roja	Convexa	Entero	2	0,58
Mediana	Roja	Plana	Entero	1	0,29
Mediana	Creмосa	Plana	Entero	1	0,29
Mediana	Amarilla	Convexa	Entero	1	0,29
Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	61	17,58
Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	25	7,20
Pequeña	Creмосa	Convexa	Irregular	3	0,86
Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	6	1,73
Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	1	0,29
Pequeña	Translúcida	Convexa	Irregular	1	0,29
Pequeña	Creмосa	Plana	Entero	1	0,29

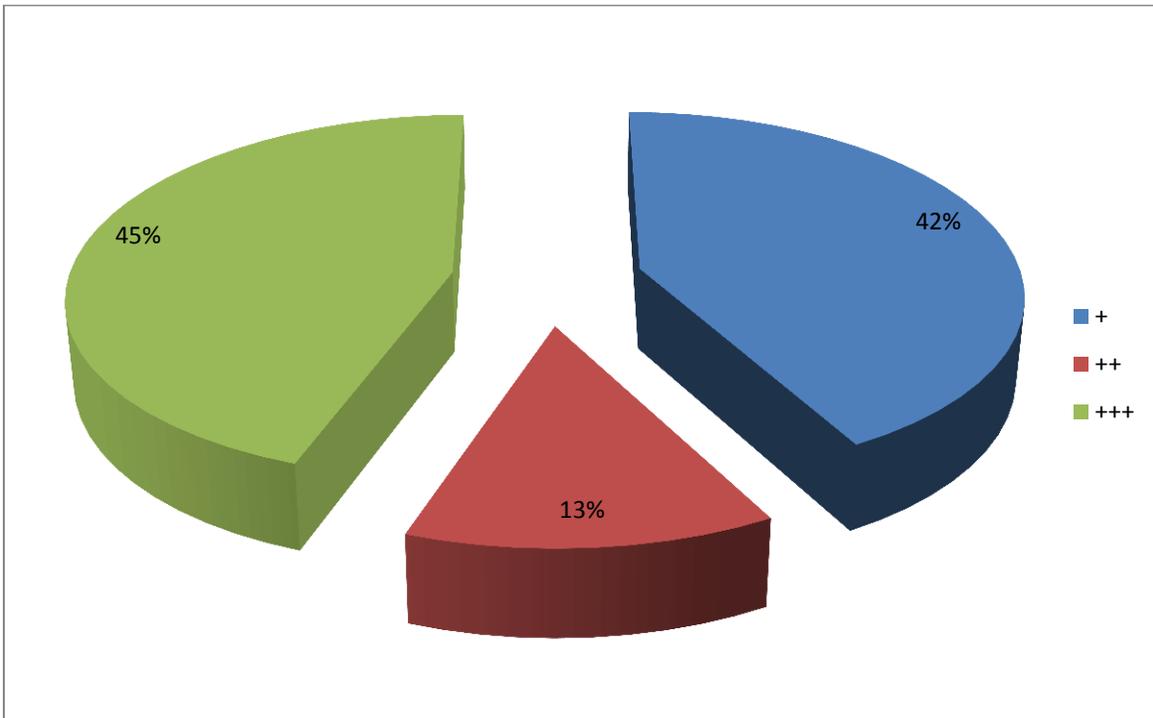


Figura 19. Bacterias aisladas de aguas residuales según su crecimiento en agar infusión cerebro corazón con plomo.

4.2. Bacterias nativas adaptadas a concentraciones crecientes de plomo

La absorbancia de las bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 100ppm de plomo osciló entre 0,167 y 1,473 nm (Tabla 4). Con 200 ppm la absorbancia osciló entre 0,241 y 1,020 nm (Tabla 5). Con 400 ppm la absorbancia fue de 0,451 - 0,992 nm (Tabla 6) y con 600 ppm la absorbancia osciló entre 0,139 y 0,470 nm (Tabla 7). Los mayores valores en la absorbancia de las bacterias contenidas en caldo con 600 ppm de plomo correspondientes a 0,470; 0,430 y 0,388 se alcanzaron con los cultivos 23D, 60D y 19B (Tabla 7).

Las bacterias nativas se adaptaron a concentraciones crecientes de plomo (Figura 20); sin embargo, el porcentaje de bacterias disminuyó conforme se incrementó la concentración. De esta manera, se alcanzó 55,4% con 100 ppm; 40,2% con 200 ppm; 20,8% con 400 ppm y 14,7% con 600 ppm.

4.3 Bacterias nativas resistentes al plomo seleccionadas e identificadas

Las tres bacterias seleccionadas por su resistencia a 600 ppm de plomo se identificaron como *Acinetobacter* sp.19B, *Pseudomonas* sp.23D y *Burkholderia* sp.60D (Tabla 8).

4.4 Cinética de la remoción de plomo por bacterias seleccionadas

4.4.1 Curva patrón para el cálculo de la concentración de biomasa por turbidimetría

Con los datos de absorbancia obtenidos con diferentes concentraciones de biomasa de las tres bacterias nativas seleccionadas, se obtuvieron las ecuaciones $Y = 0,0039x + 0,1081$ (Tabla 9, figura 21); $Y = 0,0018x + 0,1231$ (Tabla 10, figura 22) y $Y = 0,0051x + 0,0804$ (Tabla 11, figura 23). Debido a que el valor del coeficiente de determinación (R^2) de cada una de las tres ecuaciones fue mayor de 0,9; éstas se aceptaron como patrones de referencia para el cálculo de la concentración de biomasa.

Tabla 4. Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 100 ppm de plomo

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
1 - 2C	1,473	45 - 23B	0,553	89 - 19D	0,505
2 - 28C	1,279	46 - 2A	0,553	90 - 51D	0,504
3 - 25C	1,112	47 - 131D	0,553	91 - 71B	0,503
4 - 1C	1,059	48 - 151D	0,548	92 - 99C	0,502
5 - 32D	0,952	49 - 89D	0,546	93 - 137C	0,502
6 - 15C	0,843	50 - 36D	0,542	94 - 112D	0,502
7 - 11B	0,678	51 - 106D	0,539	95 - 71C	0,501
8 - 44D	0,674	52 - 9A	0,538	96 - 51A	0,501
9 - 49D	0,671	53 - 26B	0,537	97 - 60B	0,501
10 - 25D	0,666	54 - 128D	0,536	98 - 80C	0,499
11 - 3C	0,636	55 - 131C	0,536	99 - 134C	0,499
12 - 28B	0,632	56 - 81B	0,536	100 - 133D	0,499
13 - 29D	0,620	57 - 145D	0,536	101 - 66C	0,498
14 - 36C	0,614	58 - 97D	0,535	102 - 61D	0,497
15 - 117D	0,612	59 - 50D	0,533	103 - 81C	0,496
16 - 116D	0,603	60 - 61A	0,532	104 - 66B	0,496
17 - 23C	0,601	61 - 94C	0,531	105 - 69A	0,495
18 - 24D	0,600	62 - 129D	0,528	106 - 102D	0,493
19 - 62D	0,599	63 - 103D	0,528	107 - 117C	0,491
20 - 53D	0,597	64 - 38B	0,525	108 - 73C	0,491
21 - 36B	0,596	65 - 28A	0,524	109 - 73B	0,491
22 - 42C	0,596	66 - 64B	0,523	110 - 108D	0,491
23 - 63D	0,594	67 - 50A	0,522	111 - 135C	0,489
24 - 132D	0,589	68 - 27B	0,522	112 - 65A	0,489
25 - 11A	0,588	69 - 140C	0,521	113 - 62B	0,489
26 - 57D	0,586	70 - 4A	0,521	114 - 68B	0,489
27 - 57C	0,584	71 - 56B	0,521	115 - 42D	0,487
28 - 60D	0,581	72 - 144D	0,521	116 - 76B	0,487
29 - 22D	0,581	73 - 125D	0,518	117 - 20C	0,486
30 - 10C	0,58	74 - 50C	0,518	118 - 115C	0,483
31 - 92D	0,579	75 - 105D	0,517	119 - 137D	0,483
32 - 30B	0,576	76 - 27A	0,513	120 - 89A	0,482
33 - 18D	0,572	77 - 32A	0,513	121 - 83C	0,481
34 - 37C	0,572	78 - 88D	0,513	122 - 56C	0,480
35 - 32B	0,571	79 - 46C	0,512	123 - 146D	0,480
36 - 55D	0,570	80 - 106C	0,511	124 - 101D	0,479
37 - 75C	0,567	81 - 77A	0,509	125 - 48C	0,479
38 - 45D	0,567	82 - 110C	0,509	126 - 128C	0,478
39 - 12B	0,564	83 - 75B	0,509	127 - 57B	0,478
40 - 72C	0,563	84 - 136D	0,509	128 - 139D	0,478
41 - 52D	0,563	85 - 149D	0,509	129 - 82B	0,476
42 - 29A	0,562	86 - 120C	0,507	130 - 38D	0,475
43 - 71D	0,561	87 - 139C	0,507	131 - 91A	0,473
44 - 14B	0,559	88 - 138D	0,506	132 - 110D	0,473

Continuación...

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
133 - 33D	0,472	177 - 84A	0,423	221 - 91D	0,358
134 - 43D	0,472	178 - 64C	0,423	222 - 89C	0,356
135 - 148D	0,472	179 - 48A	0,421	223 - 66A	0,356
136 - 24B	0,469	180 - 102C	0,421	224 - 20B	0,356
137 - 114D	0,469	181 - 72D	0,421	225 - 126D	0,354
138 - 120D	0,469	182 - 2D	0,415	226 - 99D	0,354
139 - 9C	0,469	183 - 58C	0,414	227 - 25B	0,353
140 - 81D	0,469	184 - 123D	0,412	228 - 90B	0,352
141 - 23D	0,466	185 - 52B	0,411	229 - 77B	0,351
142 - 33C	0,466	186 - 40D	0,411	230 - 116C	0,345
143 - 98D	0,465	187 - 35D	0,406	231 - 147D	0,341
144 - 31D	0,464	188 - 46D	0,404	232 - 12D	0,339
145 - 72B	0,463	189 - 130D	0,401	233 - 63C	0,339
146 - 37D	0,462	190 - 66D	0,401	234 - 16B	0,338
147 - 78D	0,461	191 - 7B	0,400	235 - 82D	0,338
148 - 113D	0,461	192 - 67C	0,398	236 - 14C	0,338
149 - 119D	0,458	193 - 122D	0,398	237 - 115D	0,338
150 - 79B	0,456	194 - 70B	0,397	238 - 74C	0,336
151 - 59B	0,455	195 - 55C	0,397	239 - 16D	0,335
152 - 124C	0,452	196 - 47D	0,394	240 - 63B	0,333
153 - 19B	0,450	197 - 96C	0,390	241 - 65D	0,332
154 - 108C	0,449	198 - 53B	0,389	242 - 62C	0,331
155 - 55A	0,449	199 - 88B	0,388	243 - 135D	0,329
156 - 56D	0,448	200 - 45C	0,387	244 - 127D	0,327
157 - 22B	0,446	201 - 61B	0,385	245 - 141D	0,323
158 - 15B	0,445	202 - 11D	0,381	246 - 113C	0,321
159 - 65C	0,445	203 - 78B	0,381	247 - 118D	0,321
160 - 98C	0,443	204 - 105C	0,378	248 - 28D	0,312
161 - 143D	0,443	205 - 29B	0,375	249 - 129C	0,309
162 - 93D	0,441	206 - 142D	0,375	250 - 67D	0,308
163 - 55B	0,44	207 - 8B	0,374	251 - 2B	0,304
164 - 4C	0,439	208 - 27D	0,374	252 - 107D	0,302
165 - 64D	0,439	209 - 31B	0,373	253 - 5C	0,292
166 - 67B	0,432	210 - 121D	0,371	254 - 58B	0,291
167 - 95D	0,431	211 - 86D	0,371	255 - 65B	0,290
168 - 25A	0,430	212 - 125C	0,369	256 - 85B	0,283
169 - 48D	0,428	213 - 5B	0,369	257 - 17B	0,262
170 - 87B	0,428	214 - 83B	0,369	258 - 54D	0,250
171 - 134D	0,427	215 - 94D	0,369	259 - 59D	0,246
172 - 8D	0,426	216 - 13C	0,369	260 - 10B	0,223
173 - 74B	0,425	217 - 34A	0,368	261 - 21D	0,221
174 - 40B	0,425	218 - 69B	0,365	262 - 39C	0,182
175 - 53C	0,424	219 - 21C	0,365	263 - 1D	0,167
176 - 124D	0,423	220 - 58D	0,360		

Tabla 5. Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 200 ppm de plomo

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
1 - 64D	1,020	39 - 30B	0,498	77 - 61D	0,432
2 - 60 D	0,931	40 - 60B	0,498	78 - 132D	0,431
3 - 48D	0,76	41 - 82B	0,495	79 - 37D	0,430
4 - 63D	0,754	42 - 134D	0,495	80 - 137C	0,429
5 - 4C	0,751	43 - 23B	0,494	81 - 92D	0,429
6 - 36B	0,701	44 - 56 C	0,492	82 - 117D	0,428
7 - 35D	0,674	45 - 72C	0,489	83 - 128D	0,428
8 - 38B	0,606	46 - 95D	0,483	84 - 56B	0,423
9 -112D	0,601	47 - 79B	0,481	85 - 115C	0,423
10 - 19B	0,598	48 - 14B	0,475	86 - 52D	0,422
11 - 133D	0,587	49 - 28B	0,473	87 - 98C	0,421
12 - 108D	0,583	50 - 98D	0,473	88 - 32A	0,42
13 - 114D	0,579	51 - 53C	0,471	89 - 102D	0,419
14 - 32D	0,578	52 - 124D	0,471	90 - 130D	0,417
15 - 75B	0,564	53 - 2D	0,468	91 - 65A	0,413
16 - 138D	0,563	54 - 81B	0,466	92 - 134C	0,412
17 - 52B	0,561	55 - 49D	0,464	93 - 139D	0,411
18 - 66D	0,557	56 - 120C	0,461	94 - 62D	0,407
19 - 129D	0,553	57 - 44D	0,46	95 - 106C	0,406
20 - 149D	0,551	58 - 11B	0,459	96 - 43D	0,404
21 - 3C	0,55	59 - 81D	0,459	97 - 15C	0,403
22 - 50D	0,545	60 - 33C	0,458	98 - 23D	0,403
23 - 148D	0,544	61 - 57D	0,458	99 - 29D	0,401
24 - 33D	0,54	62 - 110D	0,457	100 - 26B	0,398
25 - 68B	0,539	63 - 75C	0,456	101 - 64B	0,397
26 - 31D	0,538	64- 40D	0,454	102 - 143D	0,397
27 - 144D	0,538	65 - 67B	0,453	103 - 89D	0,395
28 - 38D	0,523	66 - 88D	0,453	104 - 71C	0,394
29 - 146D	0,521	67 - 22B	0,452	105 - 55B	0,389
30 - 15B	0,517	68 - 66B	0,444	106 - 139C	0,389
31 -72B	0,512	69 - 72D	0,444	107 - 106D	0,389
32 - 119D	0,512	70 - 81C	0,441	108 - 87B	0,388
33 - 59B	0,51	71 - 120D	0,439	109 - 113D	0,388
34 - 32B	0,509	72 - 36D	0,435	110 - 131D	0,387
35 - 8D	0,507	73 - 45D	0,435	111 - 71B	0,381
36 -105D	0,502	74 - 137D	0,435	112 - 40B	0,38
37 - 62B	0,501	75 - 46D	0,434	113 - 24B	0,374
38 - 103D	0,499	76 - 73B	0,432	114 - 89A	0,373

Continuación...

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
115 - 74B	0,371	141 - 131C	0,339	167 - 1C	0,319
116 - 84A	0,369	142 - 91A	0,340	168 - 42C	0,318
117 - 99C	0,369	143 - 9A	0,336	169 - 110C	0,318
118 - 91A	0,368	144 - 57B	0,336	170 - 2A	0,315
119 - 97D	0,366	145 - 64C	0,336	171 - 53D	0,315
120 - 25A	0,365	146 - 145D	0,336	172 - 25D	0,314
121 - 125D	0,365	147 - 29A	0,334	173 - 28C	0,312
122 - 48A	0,364	148 - 71D	0,333	174 - 48C	0,312
123 - 108C	0,364	149 - 77A	0,332	175 - 56D	0,312
124 - 124C	0,364	150 - 128C	0,332	176 - 116D	0,312
125 - 11A	0,363	151 - 46C	0,33	177 - 9C	0,311
126 - 58C	0,363	152 - 117C	0,329	178 - 78D	0,308
127 - 12B	0,361	153 - 22D	0,328	179 - 27B	0,306
128 - 66C	0,358	154 - 51D	0,328	180 - 73C	0,306
129 - 102C	0,358	155 - 28A	0,327	181 - 24D	0,304
130 - 101D	0,358	156 - 35C	0,327	182 - 7B	0,303
131 - 93D	0,356	157 - 57C	0,327	183 - 140C	0,302
132 - 136D	0,354	158 - 55D	0,325	184 - 55A	0,301
133 - 37C	0,351	159 - 42D	0,324	185 - 76B	0,301
134 - 94C	0,351	160 - 50A	0,323	186 - 151D	0,301
135 - 135C	0,351	161 - 83C	0,323	187 - 27A	0,298
136 - 10C	0,348	162 - 19D	0,323	188 - 50C	0,298
137 - 4A	0,346	163 - 36C	0,322	189 - 51A	0,293
138 - 80C	0,346	164 - 65C	0,321	190 - 61A	0,266
139 - 2C	0,345	165 - 123D	0,321	191 - 69A	0,241
140 - 23C	0,34	166 - 18D	0,32		

Tabla 6. Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 400 ppm de plomo

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
1 - 32D	0,992	34 - 36D	0,693	67 - 66B	0,609
2 - 4C	0,971	35 - 73B	0,689	68 - 120C	0,609
3 - 60D	0,915	36 - 62B	0,688	69 - 36B	0,606
4 - 48D	0,912	37 - 137C	0,687	70 - 128D	0,602
5 - 64D	0,842	38 - 45D	0,687	71 - 1C	0,598
6 - 38D	0,802	39 - 32B	0,686	72 - 112D	0,593
7 - 50D	0,802	40 - 52B	0,679	73 - 44D	0,592
8 - 33C	0,796	41 - 110D	0,679	74 - 72B	0,590
9 - 63D	0,780	42 - 79B	0,673	75 - 66C	0,590
10 - 139D	0,776	43 - 72D	0,667	76 - 120D	0,589
11 - 19B	0,758	44 - 11B	0,657	77 - 133D	0,587
12 - 30B	0,757	45- 88D	0,654	78 - 57D	0,582
13 - 35D	0,754	46 - 8D	0,652	79 - 75C	0,581
14 - 23D	0,751	47 - 38B	0,647	80 - 81B	0,563
15 - 56C	0,747	48 - 2D	0,645	81 - 37D	0,560
16 - 148D	0,739	49 - 105D	0,645	82 - 67B	0,559
17 - 117D	0,738	50 - 129D	0,639	83 - 106C	0,556
18 - 138D	0,721	51 - 53C	0,638	84 - 81D	0,551
19 - 33D	0,719	52 - 60B	0,636	85 - 134C	0,543
20 - 14B	0,717	53 - 81C	0,633	86 - 52D	0,537
21 - 31D	0,717	54 - 102D	0,631	87 - 130D	0,526
22 - 134D	0,713	55 - 49D	0,630	88 - 15C	0,508
23 - 3C	0,712	56 - 124D	0,628	89 - 103D	0,506
24 - 108D	0,709	57 - 56B	0,621	90 - 40 D	0,504
25 - 146D	0,706	58 - 72C	0,621	91 - 98D	0,498
26 - 92D	0,705	59 - 15B	0,619	92 - 59B	0,489
27 - 75B	0,703	60 - 119D	0,617	93 - 2C	0,487
28 - 98C	0,703	61 - 66D	0,616	94 - 61D	0,485
29 - 132D	0,701	62 - 114D	0,613	95 - 32A	0,479
30 - 137D	0,699	63 - 68B	0,611	96 - 28B	0,478
31 - 82B	0,698	64 - 149D	0,611	97 - 23B	0,470
32 - 115C	0,698	65 - 46D	0,610	98 - 22B	0,464
33 - 95D	0,697	66 - 144D	0,610	99 - 65A	0,451

Tabla 7. Absorbancia (600 nm) de bacterias nativas cultivadas en caldo infusión cerebro corazón con 600 ppm de plomo

Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)	Bacteria - Código	Absorbancia (600 nm)
1 - 23D	0,470	25 - 132D	0,307	49 - 48D	0,243
2 - 60D	0,430	26 - 114D	0,305	50 - 36D	0,238
3 - 19B	0,388	27 - 137D	0,305	51 - 32D	0,236
4 - 14B	0,374	28 - 72C	0,292	52 - 144D	0,232
5 - 35D	0,368	29 - 95D	0,291	53 - 38B	0,231
6 - 64D	0,353	30 - 33C	0,29	54 - 88D	0,228
7 - 30B	0,343	31 - 129D	0,29	55 - 68B	0,227
8 - 2D	0,343	32 - 75B	0,289	56 - 98C	0,223
9 - 62B	0,33	33 - 117D	0,288	57 - 148D	0,219
10 - 60B	0,324	34 - 81C	0,281	58 - 38D	0,215
11 - 66B	0,322	35 - 82B	0,278	59 - 4C	0,214
12 - 15B	0,321	36 - 124D	0,271	60 - 46D	0,212
13 - 52B	0,319	37 - 110D	0,269	61 - 56B	0,211
14 - 128D	0,319	38 - 146D	0,265	62 - 149D	0,205
15 - 66D	0,315	39 - 115C	0,264	63 - 31D	0,203
16 - 119D	0,315	40 - 134D	0,263	64 - 72D	0,199
17 - 32B	0,313	41 - 120C	0,261	65 - 56C	0,164
18 - 79B	0,311	42 - 11B	0,26	66 - 45D	0,164
19 - 102D	0,311	43 - 137C	0,255	67 - 53C	0,163
20 - 33D	0,31	44 - 8D	0,254	68 - 36B	0,155
21 - 73B	0,309	45 - 63D	0,253	69 - 49D	0,154
22 - 92D	0,309	46 - 3C	0,251	70 - 50D	0,139
23 - 139D	0,309	47 - 105D	0,245		
24 - 108D	0,308	48 - 138D	0,244		

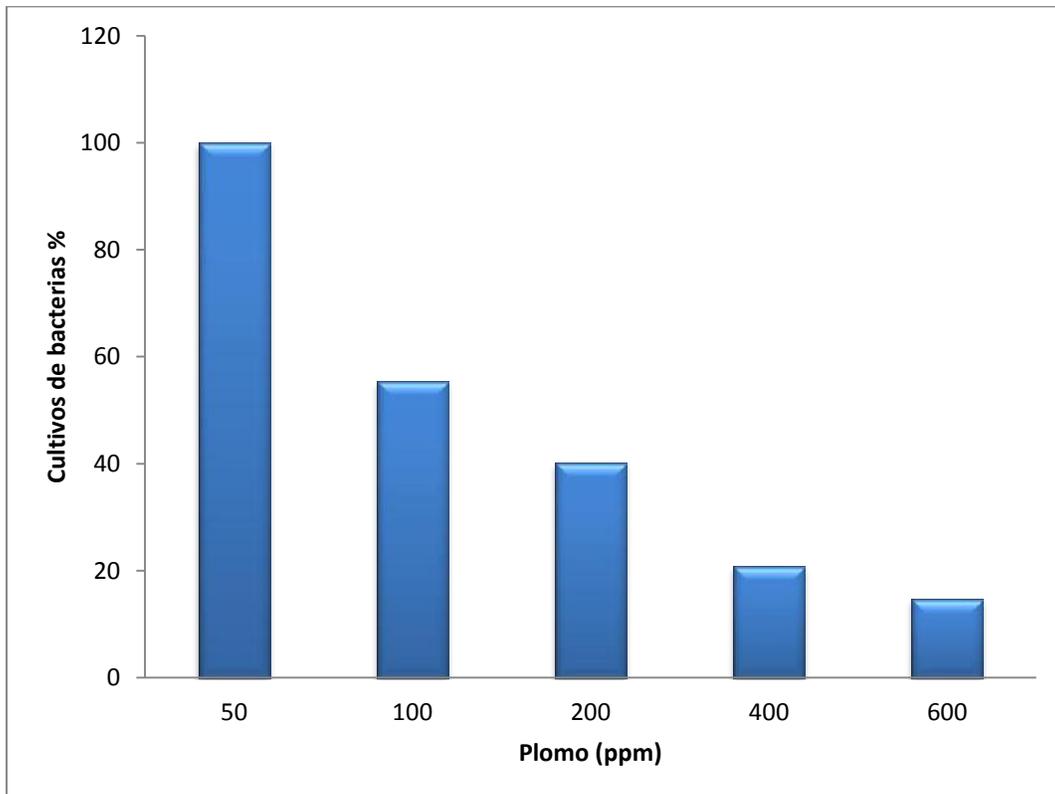


Figura 20. Cultivos de bacterias nativas según su adaptación a concentraciones crecientes de nitrato de plomo

Tabla 8. Características diferenciales de bacterias nativas resistentes a 600 ppm de plomo

Características	<i>Acinetobacter sp.19B</i>	<i>Pseudomonas sp.23D</i>	<i>Burkholderia sp.60D</i>
Células	Bacilos rectos	Bacilos rectos	Bacilos rectos
Tinción de Gram	-	-	-
Motilidad	-	+	+
Oxidasa	-	+	+
Catalasa	+	+	+
Descarboxilación de arginina	-	+	+
Hidrólisis de la gelatina	-	-	+
Hidrólisis de la esculina	-	-	+
Reducción de nitratos	-	+	-
Descarboxilación de lisina	+	-	+
Polimixina B (300UI)	ND	S	R
Penicilina	R	ND	ND
Oxido – fermentación:			
▪ Glucosa	+	+	+
▪ Maltosa	+	-	+
▪ Manitol	-	+	+
▪ Sacarosa	-	-	+
▪ Xilosa	+	+	+

* (+) positivo; (-) negativo.

* (R) resistente; (S) sensible.

*(ND) no determinado.

Tabla 9. Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de *Acinetobacter* sp.19B

Biomasa (mgL⁻¹)	Absorbancia (600 nm)
32,54	0,235
3,254	0,121
0,325	0,109
0,033	0,108

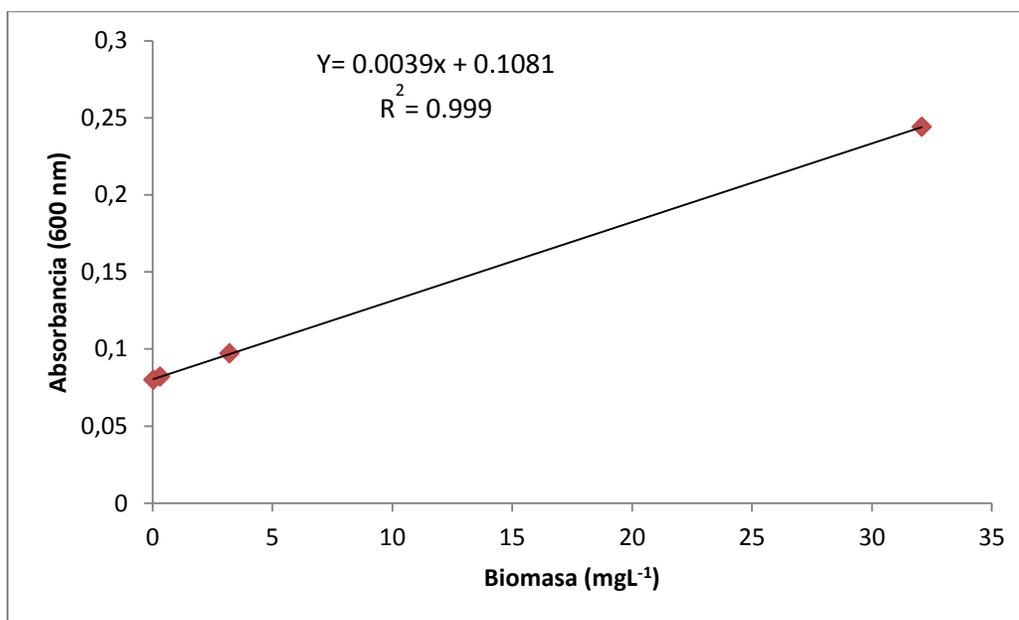


Figura 21. Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de *Acinetobacter* sp.19B

Tabla 10. Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de *Pseudomonas* sp.23D

Biomasa (mgL⁻¹)	Absorbancia (600 nm)
45,50	0,205
4,550	0,131
0,455	0,124
0,046	0,123

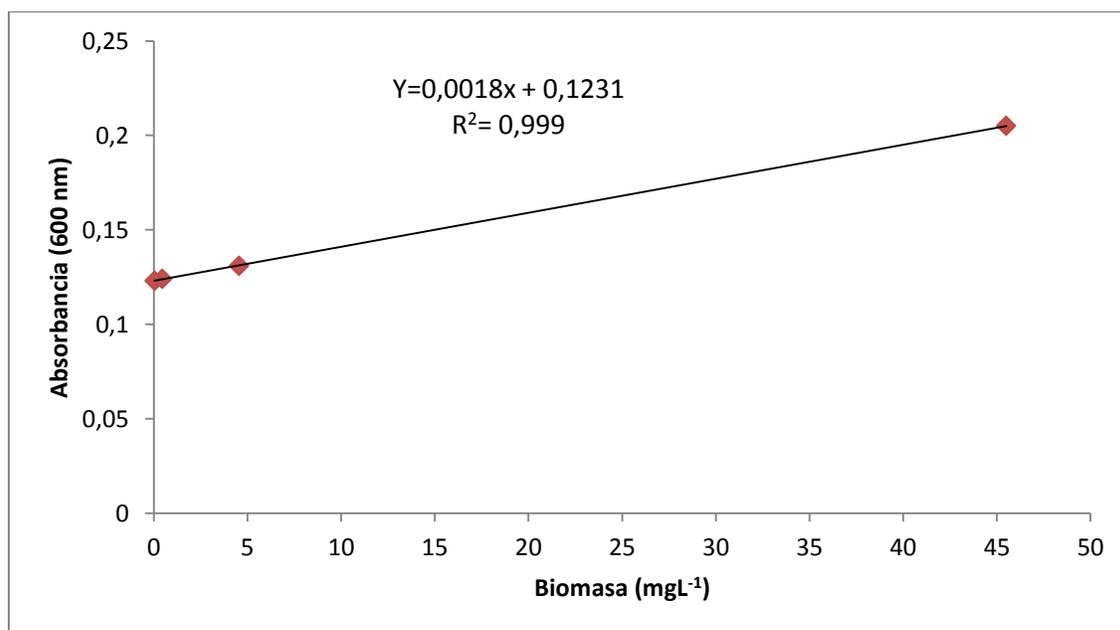


Figura 22. Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de *Pseudomonas* sp.23D

Tabla 11. Valores de absorbancia (600 nm) de biomasa de *Burkholderia* sp.60D

Biomasa (mgL⁻¹)	Absorbancia (600 nm)
32,08	0,244
3,208	0,097
0,321	0,082
0,032	0,080

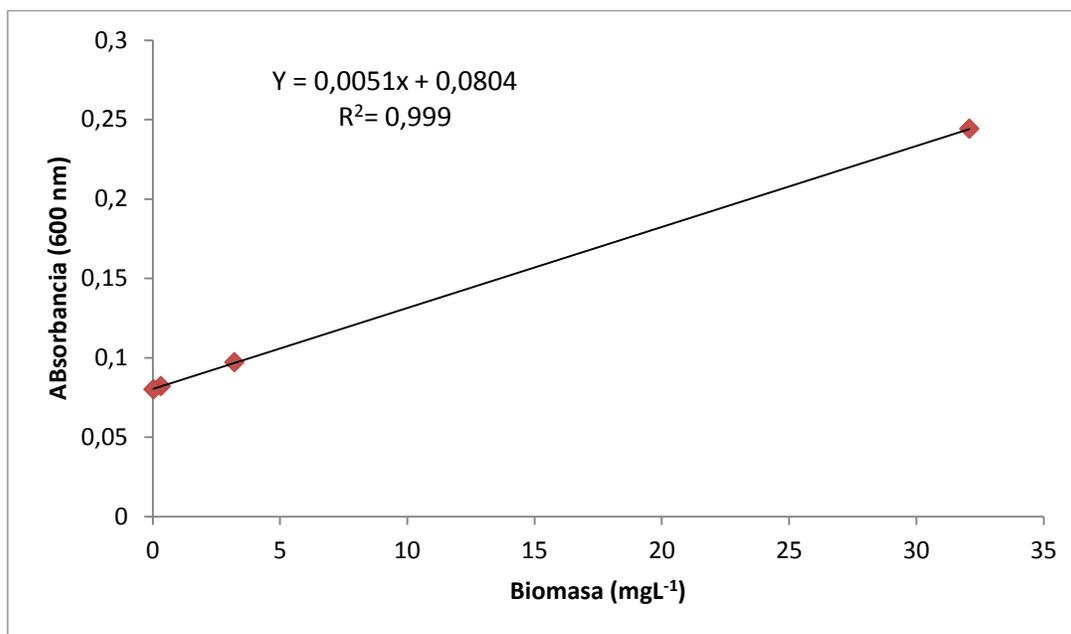


Figura 23. Curva patrón para determinar la concentración de biomasa de *Burkholderia* sp.60D

4.4.2 Biomasa formada por bacterias resistentes al plomo

Los valores de la concentración de biomasa de las bacterias nativas resistentes a 600 ppm oscilaron entre 0 y 45,50 mgL⁻¹ a las 12 y 96 horas, respectivamente (Tabla 12). El mayor valor de biomasa correspondió a *Pseudomonas* sp.23D (45,50 mgL⁻¹), seguido de *Acinetobacter* sp.19B (32,54 mgL⁻¹) y *Burkholderia* sp.60D (32,08 mgL⁻¹).

4.4.3 Eficiencia de la remoción de plomo por bacterias nativas

La eficiencia de la remoción de plomo por bacterias nativas fue de 83,2% con *Pseudomonas* sp.23D; 66,8% con *Acinetobacter* sp.19B y 63,3% con *Burkholderia* sp.60D (Tabla 13).

Tabla 12. Concentración (mgL^{-1}) de biomasa de bacterias nativas en caldo infusión cerebro corazón con 600 ppm de plomo

Tiempo (Horas)	Biomasa (mgL^{-1})		
	<i>Pseudomonas</i> sp.23D	<i>Acinetobacter</i> sp.19B	<i>Burkholderia</i> sp.60D
12	0	0	0,1
24	5,50	5,10	6,2
36	12,16	14,07	15,61
48	18,83	20,23	20,31
60	25,50	23,31	25,02
72	32,17	26,38	27,37
84	38,83	29,96	29,73
96	45,50	32,54	32,08

Tabla 13. Parámetros cinéticos de la remoción de plomo en agua residual sintética por *Acinetobacter* sp.19B, *Pseudomonas* sp.23D y *Burkholderia* sp.60D

Parámetros	<i>Pseudomonas</i> sp. 23D	<i>Acinetobacter</i> sp. 19B	<i>Burkholderia</i> sp. 60D
Plomo inicial (mgL^{-1})	600	600	600
Plomo final (mgL^{-1})	101	199	220
Plomo removido (mgL^{-1})	499	401	380
Eficiencia (%)	83,2	66,8	63,3

V. DISCUSIÓN

Para obtener bacterias resistentes al plomo se colectaron muestras de aguas residuales, coincidiendo con Moraga *et al.* (2003). Contaminantes como el plomo son descargados en la atmósfera y en los ambientes terrestres y acuáticos, por sectores como el parque automotriz que consume baterías en las que se usa plomo. Asimismo, el área de recubrimientos con óxidos y sales de plomo, la industria del vidrio, tintes de cabello, cañerías antiguas y soldaduras de plomo también generan residuos con el metal pesado y en todos los casos son evacuados por el desagüe (Ubillus, 2003).

Las bacterias de las muestras de agua residual se enriquecieron con 50 ppm de plomo para reducir al máximo o eliminar las bacterias no resistentes a este metal pesado, coincidiendo con Garza (2005) y López (2011). Se consideraron bacterias resistentes al plomo aquellas que desarrollaron en agar mas el contaminante después de dos subcultivos, teniendo en cuenta que los subcultivos disminuyen gradualmente y eliminan los microorganismos heterótrofos provenientes de las aguas residuales, asegurando la permanencia del microorganismo investigado o bacterias resistentes al plomo en la presente investigación (Guerrero, 2006).

En muestras de aguas residuales con 50 ppm de plomo se aislaron bacterias resistentes al plomo, coincidiendo con Moraga *et al.* (2003), quienes colectaron muestras de agua en estaciones cercanas a la descarga de efluentes industriales. La presencia de metales pesados en el ambiente, ejerce una fuerte presión de selección sobre los organismos y si la descarga del contaminante es permanente, como sucede habitualmente con los metales pesados, se produce una selección de genotipos resistentes. En este contexto, también se aislaron bacterias resistentes al plomo de la rizósfera de *Cynodon dactylon* colectada en una zona con vertimientos de residuos de una empresa de cerámica (Sánchez, 2008), biomasa en compostaje (López, 2011), suelo y lodos industriales (Soto *et al.*, 2010) y suelo contaminado con hidrocarburos (Mendoza *et al.*, 2010)

La interacción metal-microorganismo depende del estado de oxidación del metal y el compuesto que esté conformando. Un microorganismo puede movilizar o inmovilizar un metal. En la inmovilización, el metal pasa del estado soluble inicial en fase acuosa a una insoluble final en fase sólida (Rittmann & Mc Carty, 2001). De esta manera la biosorción es el proceso pasivo, metabólicamente no activo, de unión de iones metálicos a la superficie celular de diversos microorganismos como algas, hongos y bacterias. Los mecanismos involucrados son la adsorción, intercambio iónico, complejación, quelación y la microprecipitación (Esteban, 2013) Se ha demostrado la biosorción en bacterias (Moraga *et al.*, 2003; Sánchez, 2008; Mendoza *et al.*, 2010; Soto *et al.*, 2010), pero también en hongos filamentosos (Hernández, 2011; López, 2011) y levaduras (Gutiérrez *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2008).

Para el aislamiento de bacterias resistentes al plomo se utilizaron disoluciones preparadas con una solución de plomo $Pb(NO_3)_2$, coincidiendo con Gutiérrez *et al.* (2008), Garza (2005), Rodríguez *et al.* (2008) y Esteban (2013). El pH de los medios de cultivo con plomo se ajustó a 5,0 por cuanto a pH inferior se favorece la solvatación del catión metálico y a pH cercano a 7,0 y mayor a 7,0 el plomo precipita por los OH^- en el medio (Gutiérrez *et al.*, 2008). Al respecto, Rodríguez *et al.* (2008) determinaron que el pH fue la variable con mayor influencia en el proceso de biosorción de plomo por biomasa de *Saccharomyces*

cerevisiae residual, alcanzándose el mayor porcentaje de retención a pH 5,0. Según estos investigadores el pH afecta los iones en solución, pero también los grupos funcionales de la pared celular de los microorganismos. A pH menor de 5,0 los H⁺ compiten con el ion Pb²⁺ por los sitios activos de la superficie celular. El estado iónico de los ligandos como los grupos carboxilo, hidroxilo y fosfato de la pared celular promueve la atracción de los iones metálicos. La interacción entre los iones metálicos y la pared celular es aparentemente de naturaleza electrostática y se ve afectado por el pH de la solución (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Las bacterias Gram negativas resistentes al plomo predominaron frente a las Gram positivas, coincidiendo con Moraga *et al.* (2003), quienes reportaron formas Gram negativas no fermentadoras en bacterias resistentes al cromo y plomo, aisladas de aguas con descargas de efluentes domésticos e industriales. Por el contrario, Soto *et al.* (2010) determinaron que la bacteria Gram positiva *Micrococcus* sp. predominó después del enriquecimiento selectivo de bacterias con los metales Pb²⁺, Cr²⁺, Hg²⁺.

Las bacterias nativas resistieron hasta 600 ppm de plomo superando 100 ppm reportados por Mendoza *et al.* (2010) para *Chromobacterium violaceum* y *Burkholderia cepacia*. Por el contrario, Esteban (2013) reportó dos cepas de *Lactobacillus keffir* capaces de sobrevivir en presencia de 2071,9 ppm de plomo; sin cambios significativos en la biomasa después de 76 horas. Según Cárdenas *et al.* (2010) los microorganismos con potencial de adaptación a ambientes extremos presentan mecanismos de resistencia por lo que son de gran interés, con la perspectiva de su posible aplicación y uso de su biomasa para eliminar metales pesados de ambientes acuáticos impactados. La relación contaminante – microorganismo origina procesos adaptativos que finalmente se expresan como mecanismos de resistencia al contaminante (Moraga *et al.*, 2003).

Para obtener bacterias resistentes a concentraciones crecientes de plomo se cuantificó la biomasa, coincidiendo con Rodríguez *et al.* (2008), quienes demostraron que la biosorción de plomo por *Saccharomyces cerevisiae* fue favorecida por incrementos en la concentración de biomasa, debido a que también aumentó la disponibilidad de sitios activos para la retención de los iones

metálicos. No obstante, Gutiérrez *et al.* (2008) determinaron que después de un rango de concentración celular, la tasa máxima de retención de plomo es independiente de la concentración. Estos investigadores determinaron que 100 % de plomo en solución fue retenido por la biomasa cuando C_i/X_o fue menor a 0,25; mientras que las células se encontraron completamente saturadas cuando C_i/X_o fue mayor a 1,0.

En la literatura también se encontraron representantes de bacterias que resistieron más de 600 ppm de plomo. En este contexto, Moraga *et al.* (2003) determinaron que *Pseudomonas* sp. y *Alcaligenes* sp. presentaron resistencia a 3200 ppm de plomo, e inclusive a dos, tres y cuatro metales como el arsénico, cobre y níquel además del plomo. Los organismos presentan variada respuesta a los iones tóxicos de un metal, como resultado de mecanismos intrínsecos o inducidos. La tolerancia es la capacidad que tiene un organismo de vivir frente a la toxicidad de los metales a través de las propiedades intrínsecas del mismo. La resistencia es la habilidad de vivir con los metales tóxicos a través de mecanismos de detoxificación, producidos en respuesta a la presencia del metal (Labrenz *et al.*, 2000).

El porcentaje de bacterias que evidenciaron crecimiento por espectrometría disminuyó conforme se incrementó la concentración de plomo. Este resultado sugiere la presencia de determinantes genéticos que confieren resistencia a las células bacterianas, habiéndose confirmado la presencia de ADN extracromosomal en cepas resistentes a metales pesados (Mondaca *et al.*, 1993).

La mayor eficiencia de remoción de plomo de agua residual sintética se alcanzó con *Pseudomonas* sp.23D, coincidiendo con Moraga *et al.* (2003) y Mendoza *et al.*(2010). En la presente investigación se alcanzó 83,2% de eficiencia en la remoción de plomo, correspondiente a 499 ppm de plomo removido, superando 80 ppm reportado por Mendoza *et al.* (2010) para *P. putida* y *P. mendocina*. En este contexto, *Pseudomonas* sp.23D, *Acinetobacter* sp.19B y *Burkholderia* sp.60D son promisorias para la remoción de plomo de efluentes contaminados.

VI. CONCLUSIONES

- En aguas residuales del Dren 4000 se aislaron bacterias con resistencia natural al plomo.
- Las bacterias nativas se adaptaron a concentraciones crecientes (50 – 600 ppm) de plomo.
- Las bacterias con resistencia a la mayor concentración de plomo (600 ppm) se identificaron como *Pseudomonas* sp.23D, *Acinetobacter* sp.19B y *Burkholderia* sp.60D.
- La eficiencia de la remoción de plomo en agua residual sintética fue de 83,2% con *Pseudomonas* sp.23D; 66,8% con *Acinetobacter* sp.19B y 63,3% con *Burkholderia* sp.60D.

VII. RECOMENDACIONES

- Investigar el mecanismo de remoción de plomo por *Pseudomonas* sp.23D, *Acinetobacter* sp.19B y *Burkholderia* sp.60D.
- Caracterizar a nivel molecular *Pseudomonas* sp.23D, *Acinetobacter* sp.19B y *Burkholderia* sp.60D.

VIII. RESUMEN

El plomo es considerado un metal pesado con potencial para dañar el ambiente y elevada resistencia a la biodegradación. Con el objetivo de determinar la eficiencia de la remoción de plomo por bacterias se colectaron 54 muestras de aguas residuales del Dren 4000 de Lambayeque. Las muestras se enriquecieron en caldo infusión cerebro corazón con 50 ppm de plomo, aislándose 475 cultivos de bacterias con resistencia natural al plomo. Las bacterias se adaptaron a concentraciones crecientes de plomo (50 - 100 - 200 - 400 - 600 ppm), cultivándolas en caldo infusión cerebro corazón suplementado con $\text{Pb}(\text{NO}_3)^{+2}$. Se seleccionaron *Pseudomonas* sp.23D, *Acinetobacter* sp.19B y *Burkholderia* sp.60D por su resistencia a 600 ppm de plomo. Estas bacterias se cultivaron en biorreactores tipo tanque con sistema discontinuo y flujo de aire descendente, con 300 mL de agua residual sintética-600 ppm de plomo, determinándose la eficiencia de remoción de plomo: 83,2% con *Pseudomonas* sp.23D; 66,8% con *Acinetobacter* sp.19B y 63,3% con *Burkholderia* sp.60D. Se demostró el potencial de bacterias nativas para remover plomo de efluentes contaminados.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvitres, V. (2000). *Método Científico. Planificación de la Investigación*. Lambayeque, Perú: Editorial Ciencias.
- Asociación Interamericana para la Defensa del Ambiente, AIDA. (2005) *Desarrollo de un Plan de Intervención Integral para Reducir la Exposición al Plomo y otros Contaminantes en el Centro Minero de La Oroya, Perú*. Atlanta.
- Brenner, D., Garrity, M., Krieg, N., Staley, J., Boone, D. & De Vos, P. (2004). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Proteobacteria, Part B: The Gamma proteobacteria*. 2(2) Estados Unidos: Editorial Springer.
- Cañizares, R. (2000) Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(131), 131-143.
- Cárdenas, D., Garrido, M., Bonilla, R. & Baldani, L. (2010) Aislamiento e identificación de cepas de *Azospirillum* sp. en pasto guinea (*Panicum máximum* Jacq.) del Valle del Cesar. *Pastos y Forrajes*, 33,285-300.
- Chambergo, C. & Herrera, P. (2009) *Efecto de la concentración de sustrato, agitación y tiempo en la degradación fotocatalítica, biodegradación y "Proceso Acoplado" de cianuro en laboratorio. Dren 4000, Lambayeque*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

- Coyne, M. (2000) *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. España: Editorial Paraninfo.
- Cuizano, N. & Navarro, A. (2008) Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a bajas concentraciones. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 104 (2), 120-125.
- Esteban O. (2013) *Interacción de Lactobacillus kefir con plomo, cadmio, zinc y níquel: Análisis estructural y estudio de la capacidad secuestrante a nivel molecular*. [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina.
- Flores, J., Arrascue, M., Tapia, N. & Maldonado, H. (2001). Biorremediación de metales tóxicos en efluentes mineros aplicando biosorción. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 4(46), 46-51.
- Garza M. (2005). *Aislamiento de microorganismos con alta capacidad d tolerar y remover Pb(II), Cr(VU), Cd(II), Zn(II) y Ni(II)*. [Tesis Doctoral]. Universidad de la Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Guerrero G. (2006). *Capacidad degradativa de policlorobifenilo (PCB) por bacterias aisladas de aguas residuales del Dren 4000 de Lambayeque. Abril – Julio 2004*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Gutiérrez, M., González, L., Sánchez E. & Mellado, D. (2008) *Biosorción de Pb²⁺ por biomasa de Saccharomyces cerevisiae*. México: Ecatepec.
- Henry J. (2000) An overview of the phytoremediation of lead and mercury. Washington, D.C: *National Network of Environmental Management Studies (NNEMS)*.
- Hernández S. (2011) *Propuesta de un sistema de lixiviación-biosorción con hongos filamentosos para la biorremediación de matrices contaminadas con plomo*. [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

- Hernández, M. & Wegner, S. (2002) *Estudio demográfico de salud de niños intoxicados por plomo tercer dosaje A.A. H.H. "Puerto Nuevo"- Callao. Perú: Dirección General de Salud Ambiental.*
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2003) *Metodología de la Investigación.* México: Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A.
- Hurtado, A. & Guzmán C. (2011) *Producción de polihidroxicanoatos por bacterias halófilas nativas en diferentes concentraciones de almidón contenido en cáscaras de Solanum tuberosum* [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Labrenz, M., Tindall, B., Lawson, P., Collins, M., Human & Hirsh, P. (2000) *Staleyia guttiformis* gen. nov., sp. nov. and *Sulfitobacter brevis* sp. nov., α -3-Proteobacteria from hypersaline, heliothermal and meromictic antarctic Ekho Lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 303-313.
- López M. (2011) *Biorremediación de metales pesados con aislados microbianos procedentes de procesos de compostaje.* [Tesis de Maestría]. Universidad de Almería, Almería, España.
- Mejía, G. (2006) Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(1), 77-99.
- Mendoza, J., Perea, Y., Petrelin, C., Silveti, A., Martínez, M., Pérez, G., Espinosa, B. & Arriola, J. (2010) Biosorción de cromo, arsénico y plomo de soluciones acuosas por cultivos bacterianos en suspensión. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, 1(2), 67-73.
- Mondaca, M., Abarzúa, M., Paredes, K., Maugeri, T. & Martínez, M. (1993) Transferencia de resistencia a metales pesados en bacterias aisladas del río Bío Bío, VII Región, Chile. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 35,39-43.
- Moraga, R., Merino, C. & Mondaca M. (2003) Resistencia a metales pesados en bacterias aisladas de la bahía de Iquique. *Investigaciones Marinas*, 31(1),91-95.

- Pebe, G., Villa, H., Escate, L. & Cervantes, G. (2008) Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de La Oroya, 2004-2005. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25 (4), 355-360.
- Ramos, W., Munive, L., Alfaro, M., Calderón, M., Gonzáles, I. & Núñez Y. (2009) Intoxicación plúmbica crónica: una revisión de la problemática ambiental en el Perú. *Revista Peruana de Epidemiología*, 13 (2), 1-8.
- Richmond, A. (2004) *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*. Oxford, United Kingdom: Blackwell Science.
- Rittmann, B. & Mac Carty, P. (2011) *Biología del Medio Ambiente Principios y Aplicaciones*. Mexico: Ed. Mc Graw Hill.
- Rodríguez, M., Miranda, R., Olivas, R. & Sosa, C. (2008) Efectos de las condiciones de operación sobre la Biosorción de Pb^{2+} , Cd^{2+} y Cr^{3+} en solución por *Saccharomyces cerevisiae* residual. *Información Tecnológica*, 19(6), 47-55.
- Sánchez S. (2008) *Especies vegetales y microorganismos rizosféricos tolerantes a metales pesados de un ecosistema contaminado*. [Tesis de Maestría]. Universidad Agraria La Habana, La Habana, Cuba.
- Sheng, P., Ting, Y., Chen, J. & Hong, L. (2004) Sorption of lead, copper, cadmium, zinc and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275, 131-141.
- Soto, C., Gutiérrez, Rey-León, A. & Gonzales, E. (2010) Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo. *Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 8(14), 121-240.
- Ubillus J. (2003) *Estudio sobre la presencia de plomo en el medio ambiente de Talara en el año 2003*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Mayor San Marcos, Lima, Perú.
- Vásquez L. (2006) La minería en el Perú y su problemática en Lambayeque. *UMBRAL Revista de Educación, Cultura y Sociedad FACHSE*, (11-12), 119-122.

- World Health Organization, WHO (2005). *Air Quality Guidelines Global Update 2005*. Copenhagen, Denmark: Regional Office for Europe.
- Wuana, R. & Okieimen, F. (2011) Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Network*, (2011)1-20.
- Yang, H. & Pan, G. (2002) Toxicity and bioaccumulation of copper in three microalgal species. *Chemosphere*, 49, 471-476.

ANEXO 1

Calculo del número de muestras de aguas residuales para el aislamiento de bacterias resistentes al plomo (Alvitres, 2000)

$$n = \frac{z^2 (p \cdot q)}{t^2}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra.

z = 1,96 ($\alpha=0,05$) valor estándar.

p = prevalencia o presencia de bacterias resistentes al plomo en aguas residuales (0,90)

q = ausencia (0,10)

t = error permitido (0,8%)

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \times 0,10)}{(0,08)^2}$$

$$n = 54,02 \text{ muestras}$$

ANEXO 2

Caldo Infusión Cerebro Corazón (en Mendoza *et al.*, 2010)

Infusión de cerebro de ternera (a partir de 200 g)	12,5 g
Infusión de corazón de res (a partir de 250 g)	5,0 g
Glucosa	2,0 g
Peptona de gelatina	10,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Fosfato disódico	2,5 g
Nitrato de plomo*	X g
Agua destilada	1 000 mL

pH final: 7,4 ± 0,2

* La cantidad de nitrato de plomo depende de la concentración final requerida para la solución.

ANEXO 3

Preparación de caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI) a diferentes concentraciones de nitrato de plomo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)^{+2}$) a partir de una solución stock de 1000 ppm

Cantidad de plomo necesaria para preparar 0,5 mL de nitrato de plomo a 1000 ppm:

$$\text{ppm} = \frac{\text{Masa de soluto (mg)}}{\text{Volumen de solución (L)}} \qquad 1000 = \frac{\text{Cantidad de plomo (mg)}}{0,5 \text{ L}}$$

$$\text{Cantidad de plomo} = 500 \text{ mg.}$$

El peso molecular del $\text{Pb}(\text{NO}_3)^{+2}$ es 331,2 mg y contiene 207,2 mg de plomo; entonces:

$$\begin{array}{l} 331,2 \text{ mg Pb}(\text{NO}_3)^{+2} \rightarrow 207,2 \text{ mg Pb} \\ X \text{ mg Pb}(\text{NO}_3)^{+2} \rightarrow 500 \text{ mg Pb} \\ \hline X \text{ mg Pb}(\text{NO}_3)^{+2} \rightarrow 800 \text{ mg Pb} \end{array}$$

Para preparar una solución stock de 1000 ppm de plomo pesar 800 mg de $\text{Pb}(\text{NO}_3)^{+2}$ y diluir en ácido acético hasta completar 500 mL.

Luego:

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mgL}^{-1}$$

➤ Concentración 1 = 50 mgL^{-1}

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 50 \text{ mgL}^{-1} \cdot 50 \text{ mL}$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 50 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

- Para obtener una concentración de 50 ppm de plomo, tomar 2,5 mL de la solución stock y aforar a 50 mL con caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI).

*Con esta misma fórmula obtener las concentraciones de plomo requeridas para suplementar los medios de cultivo utilizados durante la investigación.

ANEXO 4

Preparación de caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI) suplementado con concentraciones crecientes de plomo (para 0,5L)

Concentración requerida (ppm)	Solución stock 1000 ppm (mL)	Caldo infusión cerebro corazón (mL)
100	50	450
200	100	400
400	200	300
600	300	200

ANEXO 5

Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de bacterias aisladas de aguas residuales

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
1 - 1A	Grande	Blanca	Plana	Irregular	Gram negativa
2 - 2A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
3 - 3A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
4 - 4A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
5 -5A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
6 - 6A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
7 - 7A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
8 - 8A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
9 - 9A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
10 -10A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
11 - 11A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
12 - 12A	Grande	Translúcida	Plana	Entero	Gram positiva
13 - 13A	Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram positiva
14 - 14A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
15 - 15A	Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
16 - 16A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
17 - 17A	Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
18 - 18A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
19 - 19A	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
20 - 20A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
21 - 21A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
22 - 22A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
23 - 23A	Mediana	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
24 - 24A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
25 - 25A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
26 - 26A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
27 - 27A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
28 - 28A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
29 - 19A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
30 - 30A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
31 - 31A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
32 - 32A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
33 - 33A	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
34 - 34A	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
35 - 35A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
36 - 36A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
37 - 37A	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
38 - 38A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
39 - 39A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
40 - 40A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
41 - 41A	Grande	Translúcida	Convexa	Irregular	Gram negativa
42 - 42A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
43 - 43A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
44 - 44A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
45 - 45A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
46 - 46A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
47 - 47A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
48 - 48A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
49 - 49A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
50 - 50A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
51 - 51A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
52 - 52A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
53 - 53A	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
54 - 54A	Mediana	Roja	Plana	Entero	Gram negativa
55 - 55A	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
56 - 56A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
57 - 57A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
58 - 58A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
59 - 59A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
60 - 60A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
61 - 61A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
62 - 62A	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
63 - 63A	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
64 - 64A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
65 - 65A	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
66 - 66A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
67 - 67A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
68 - 68A	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
69 - 69A	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
70 - 70A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
71 - 71A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
72 - 72A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
73 - 73A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
74 - 74A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
75 - 75A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
76 - 76A	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
77 - 77A	Mediana	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
78 - 78A	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
79 - 79A	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
80 - 80A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
81 - 81A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
82 - 82A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
83 - 83A	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
84 - 84A	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
85 - 85A	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
86 - 86A	Mediana	Creмоса	Plana	Entero	Gram negativa
87 - 87A	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
88 - 88A	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
89 - 89A	Grande	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
90 - 90A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
91 - 91A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
92 - 92A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
93 - 93A	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
94 - 94A	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
95 - 1B	Mediana	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram negativa
96 - 2B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
97 - 3B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
98 - 4B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
95 - 5B	Mediana	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram positiva
100 - 6B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
101 - 7B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
102 - 8B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
103 - 9B	Grande	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
104 - 10B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
105 - 11B	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
106 - 12B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
107 - 13B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
108 - 14B	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
109 - 15B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
110 - 16B	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
111 - 17B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
112 - 18B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
113 - 19B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
114 - 20B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
115 - 21B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
116 - 22B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
117 - 23B	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
118 - 24B	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
119 - 25B	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
120 - 26B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
121 - 27B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
122 - 28B	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
123 - 29B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
124 - 30B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
125 - 31B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
126 - 32B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
127 - 33B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
128 - 34B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
129 - 35B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
130 - 36B	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
131 - 37B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
132 - 38B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
133 - 39B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
134 - 40B	Pequeña	Cremospa	Convexa	Entero	Gram negativa
135 - 41B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
136 - 42B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
137 - 43B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
138 - 44B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
139 - 45B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
140 - 46B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
141 - 47B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
142 - 48B	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
143 - 49B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
144 - 50B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
145 - 51B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
146 - 52B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
147 - 53B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
148 - 54B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
149 - 55B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
150 - 56B	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
151 - 57B	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
152 - 58B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
153 - 59B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
154 - 60B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
155 - 61B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
156 - 62B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
157 - 63B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
158 - 64B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
159 - 65B	Grande	Blanca	Plana	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
160 - 66B	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
161 - 67B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
162 - 68B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
163 - 69B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
164 - 70B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
165 - 71B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
166 - 72B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
167 - 73B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
168 - 74B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
169 - 75B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
170 - 76B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
171 - 77B	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
172 - 78B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
173 - 79B	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
174 - 80B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
175 - 81B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
176 - 82B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
177 - 83B	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
178 - 84B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
179 - 85B	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
180 - 86B	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
181 - 87B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
182 - 88B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
183 - 89B	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
184 - 90B	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
185 - 1C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
186 - 2C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
187 - 3C	Grande	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
188 - 4C	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
189 - 5C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
190 - 6C	Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
191 - 7C	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
192 - 8C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
193 - 9C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
194 - 10C	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
195 - 11C	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
196 - 12C	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
197 - 13C	Pequeña	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram positiva
198 - 14C	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
199 - 15C	Grande	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
200 - 16C	Grande	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram negativa
201 - 17C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
202 - 18C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
203 - 19C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
204 - 20C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
205 - 21C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
206 - 22C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
207 - 23C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
208 - 24C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
209 - 25C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
210 - 26C	Mediana	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram positiva
211 - 27C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
212 - 28C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
213 - 29C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
214 - 30C	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
215 - 31C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
216 - 32C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
217 - 33C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
218 - 34C	Mediana	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram negativa
219 - 35C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
220 - 36C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
221 - 37C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
222 - 38C	Grande	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram negativa
223 - 39C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
224 - 40C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
225 - 41C	Mediana	Translúcida	Convexa	Irregular	Gram negativa
226 - 42C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
227 - 43C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
228 - 44C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
229 - 45C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
230 - 46C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
231 - 47C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
232 - 48C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
233 - 49C	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
234 - 50C	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
235 - 51C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
236 - 52C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
237 - 53C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
238 - 54C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
239 - 55C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
240 - 56C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
241 - 57C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
242 - 58C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
243 - 59C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
244 - 60C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
245 - 61C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
246 - 62C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
247 - 63C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
248 - 64C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
249 - 65C	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
250 - 66C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
251 - 67C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
252 - 68C	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
253 - 69C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
254 - 70C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
255 - 71C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
256 - 72C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
257 - 73C	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
258 - 74C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
259 - 75C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Irregular	Gram negativa
260 - 76C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
261 - 77C	Grande	Creмосa	Convexa	Irregular	Gram negativa
262 - 78C	Grande	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
263 - 79C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
264 - 80C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
265 - 81C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
266 - 82C	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
267 - 83C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
268 - 84C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Irregular	Gram negativa
269 - 85C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
270 - 86C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
271 - 87C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
272 - 88C	Mediana	Creмосa	Convexa	Irregular	Gram positiva
273 - 89C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
274 - 90C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
275 - 91C	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
276 - 92C	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
277 - 93C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Irregular	Gram negativa
278 - 94C	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
279 - 95C	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
280 - 96C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
281 - 97C	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
282 - 98C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
283 - 99C	Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
284 - 100C	Grande	Creмоса	Convexa	Irregular	Gram positiva
285 - 101C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
286 - 102C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
287 - 103C	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
288 - 104C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
289 - 105C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
290 - 106C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
291 - 107C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
292 - 108C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
293 - 109C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
294 - 110C	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
295 - 111C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
296 - 112C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
297 - 113C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
298 - 114C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
299 - 115C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
300 - 116C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
301 - 117C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
302 - 118C	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
303 - 119C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
304 - 120C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
305 - 121C	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
306 - 122C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
307 - 123C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
308 - 124C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
309 - 125C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
310 - 126C	Mediana	Translúcida	Convexa	Irregular	Gram positiva
311 - 127C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
312 - 128C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
313 - 129C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram positiva
314 - 130C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
315 - 131C	Grande	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
316 - 132C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
317 - 133C	Pequeña	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
318 - 134C	Mediana	Creмоса	Convexa	Entero	Gram negativa
319 - 135C	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
320 - 136C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
321 - 137C	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
322 - 138C	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
323 - 139C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
324 - 140C	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
325 - 1D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
326 - 2D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
327 - 3D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
328 - 4D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
329 - 5D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
330 - 6D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
331 - 7D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
332 - 8D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
333 - 9D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
334 - 10D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
335 - 11D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
336 - 12D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
337 - 13D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
338 - 14D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
339 - 15D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
340 - 16D	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
341 - 17D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
342 - 18D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
343 - 19D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
344 - 20D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
345 - 21D	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
346 - 22D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
347 - 23D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
348 - 24D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
349 - 25D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
350 - 26D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
351 - 27D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
352 - 28D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
353 - 29D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
354 - 30D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
355 - 31D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
356 - 32D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
357 - 33D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
358 - 34D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
359 - 35D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
360 - 36D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
361 - 37D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
362 - 38D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
363 - 39D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
364 - 40D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
365 - 41D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
366 - 42D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
367 - 43D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
368 - 44D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
369 - 45D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
370 - 46D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
371 - 47D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
372 - 48D	Grande	Translúcida	Plana	Entero	Gram negativa
373 - 49D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
374 - 50D	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
375 - 51D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
376 - 52D	Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
377 - 53D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
378 - 54D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
379 - 55D	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
380 - 56D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
381 - 57D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
382 - 58D	Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
383 - 59D	Grande	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
384 - 60D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
385 - 61D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
386 - 62D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
387 - 63D	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
388 - 64D	Mediana	Amarilla	Convexa	Entero	Gram negativa
389 - 65D	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
390 - 66D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
391 - 67D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
392 - 68D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
393 - 69D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
394 - 70D	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
395 - 71D	Grande	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
396 - 72D	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
397 - 73D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
398 - 74D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
399 - 75D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
400 - 76D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
401 - 77D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
402 - 78D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
403 - 79D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
404 - 80D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
405 - 81D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
406 - 82D	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
407 - 83D	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram positiva
408 - 84D	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
409 - 85D	Pequeña	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
410 - 86D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
411 - 87D	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram positiva
412 - 88D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
413 - 89D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
414 - 90D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
415 - 91D	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram positiva
416 - 92D	Mediana	Cremosa	Convexa	Irregular	Gram negativa
417 - 93D	Mediana	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
418 - 94D	Mediana	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
419 - 95D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
420 - 96D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
421 - 97D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
422 - 98D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
423 - 99D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
424 - 100D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
425 - 101D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
426 - 102D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
427 - 103D	Pequeña	Cremosa	Convexa	Entero	Gram negativa
428 - 104D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
429 - 105D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
430 - 106D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
431 - 107D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
432 - 108D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
433 - 109D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
434 - 110D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
435 - 111D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
436 - 112D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
437 - 113D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
438 - 114D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
439 - 115D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa

Continuación...

Bacteria - Código	Tamaño	Color	Elevación	Contorno	Tinción
440 - 116D	Pequeña	Blanca	Plana	Entero	Gram positiva
441 - 117D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
442 - 118D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
443 - 119D	Grande	Roja	Convexa	Irregular	Gram negativa
444 - 120D	Pequeña	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
445 - 121D	Grande	Roja	Convexa	Irregular	Gram negativa
446 - 122D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
447 - 123D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
448 - 124D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
449 - 125D	Grande	Roja	Convexa	Irregular	Gram negativa
450 - 126D	Grande	Roja	Convexa	Irregular	Gram negativa
451 - 127D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
452 - 128D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
453 - 129D	Pequeña	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
454 - 130D	Grande	Roja	Convexa	Entero	Gram negativa
455 - 131D	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
456 - 132D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
457 - 133D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
458 - 134D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
459 - 135D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
460 - 136D	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
461 - 137D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
462 - 138D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
463 - 139D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
464 - 140D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
465 - 141D	Grande	Blanca	Convexa	Entero	Gram positiva
466 - 142D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
467 - 143D	Mediana	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa
468 - 144D	Mediana	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
469 - 145D	Pequeña	Creмосa	Plana	Entero	Gram negativa
470 - 146D	Grande	Translúcida	Convexa	Entero	Gram negativa
471 - 147D	Mediana	Blanca	Convexa	Irregular	Gram negativa
472 - 148D	Grande	Blanca	Convexa	Irregular	Gram positiva
473 - 149D	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram positiva
474 - 150D	Pequeña	Creмосa	Convexa	Entero	Gram negativa
475 - 151D	Pequeña	Blanca	Convexa	Entero	Gram negativa

ANEXO 6

Calificación del crecimiento de bacterias nativas resistentes al plomo en agar infusión cerebro corazón con 50 ppm de plomo

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
1	2A	+++	39	46B	+++
2	4A	+++	40	52B	+++
3	9A	+++	41	56B	+++
4	11A	+++	42	57B	+++
5	28A	+++	43	58B	+++
6	29A	+++	44	59B	+++
7	32A	+++	45	60B	+++
8	39A	+++	46	63B	+++
9	44A	+++	47	66B	+++
10	56A	+++	48	67B	+++
11	57A	+++	49	68B	+++
12	63A	+++	50	73B	+++
13	64A	+++	51	74B	+++
14	73A	+++	52	77B	+++
15	74A	+++	53	78B	+++
16	75A	+++	54	79B	+++
17	81A	+++	55	80B	+++
18	86A	+++	56	81B	+++
19	7B	+++	57	85B	+++
20	10B	+++	58	86B	+++
21	11B	+++	59	87B	+++
22	12B	+++	60	89B	+++
23	14B	+++	61	90B	+++
24	15B	+++	62	1C	+++
25	19B	+++	63	2C	+++
26	20B	+++	64	3C	+++
27	22B	+++	65	9C	+++
28	23B	+++	66	10C	+++
29	24B	+++	67	14C	+++
30	26B	+++	68	20C	+++
31	27B	+++	69	21C	+++
32	28B	+++	70	22C	+++
33	30B	+++	71	23C	+++
34	31B	+++	72	28C	+++
35	36B	+++	73	29C	+++
36	40B	+++	74	35C	+++
37	41B	+++	75	37C	+++
38	43B	+++	76	39C	+++

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
77	42C	+++	115	140C	+++
78	45C	+++	116	1D	+++
79	46C	+++	117	2D	+++
80	50C	+++	118	8D	+++
81	53C	+++	119	12D	+++
82	55C	+++	120	19D	+++
83	57C	+++	121	22D	+++
84	58C	+++	122	23D	+++
85	62C	+++	123	24D	+++
86	67C	+++	124	25D	+++
87	68C	+++	125	28D	+++
88	69C	+++	126	29D	+++
89	70C	+++	127	33D	+++
90	71C	+++	128	35D	+++
91	76C	+++	129	36D	+++
92	77C	+++	130	37D	+++
93	83C	+++	131	38D	+++
94	84C	+++	132	40D	+++
95	85C	+++	133	42D	+++
96	94C	+++	134	43D	+++
97	95C	+++	135	44D	+++
98	103C	+++	136	45D	+++
99	104C	+++	137	46D	+++
100	105C	+++	138	47D	+++
101	106C	+++	139	48D	+++
102	114C	+++	140	49D	+++
103	115C	+++	141	50D	+++
104	116C	+++	142	51D	+++
105	117C	+++	143	52D	+++
106	118C	+++	144	53D	+++
107	119C	+++	145	54D	+++
108	120C	+++	146	55D	+++
109	121C	+++	147	56D	+++
110	132C	+++	148	57D	+++
111	133C	+++	149	58D	+++
112	134C	+++	150	59D	+++
113	138C	+++	151	60D	+++
114	139C	+++	152	61D	+++

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
153	63D	+++	191	124D	+++
154	64D	+++	192	125D	+++
155	65D	+++	193	126D	+++
156	66D	+++	194	128D	+++
157	67D	+++	195	129D	+++
158	68D	+++	196	130D	+++
159	69D	+++	197	131D	+++
160	70D	+++	198	132D	+++
161	74D	+++	199	133D	+++
162	77D	+++	200	134D	+++
163	79D	+++	201	135D	+++
164	81D	+++	202	141D	+++
165	82D	+++	203	142D	+++
166	83D	+++	204	143D	+++
167	84D	+++	205	144D	+++
168	85D	+++	206	145D	+++
169	86D	+++	207	146D	+++
170	87D	+++	208	147D	+++
171	88D	+++	209	148D	+++
172	89D	+++	210	149D	+++
173	90D	+++	211	1A	++
174	94D	+++	212	25A	++
175	95D	+++	213	27A	++
176	96D	+++	214	34A	++
177	100D	+++	215	45A	++
178	101D	+++	216	46A	++
179	104D	+++	217	55A	++
180	105D	+++	218	80A	++
181	106D	+++	219	91A	++
182	107D	+++	220	2B	++
183	113D	+++	221	5B	++
184	114D	+++	222	8B	++
185	115D	+++	223	16B	++
186	116D	+++	224	17B	++
187	118D	+++	225	25B	++
188	120D	+++	226	29B	++
189	121D	+++	227	32B	++
190	122D	+++	228	38B	++

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
229	42B	++	267	93D	++
230	47B	++	268	102D	++
231	48B	++	269	111D	++
232	49B	++	270	112D	++
233	69B	++	271	127D	++
234	70B	++	272	140D	++
235	71B	++	273	150D	++
236	72B	++	274	3A	+
237	82B	++	275	5A	+
238	88B	++	276	6A	+
239	4C	++	277	7A	+
240	5C	++	278	8A	+
241	13C	++	279	10A	+
242	15C	++	280	12A	+
243	33C	++	281	13A	+
244	36C	++	282	14A	+
245	48C	++	283	15A	+
246	56C	++	284	16A	+
247	64C	++	285	17A	+
248	65C	++	286	18A	+
249	66C	++	287	19A	+
250	79C	++	288	20A	+
251	80C	++	289	21A	+
252	100C	++	290	22A	+
253	110C	++	291	23A	+
254	122C	++	292	24A	+
255	123C	++	293	26A	+
256	137C	++	294	30A	+
257	4D	++	295	31A	+
258	11D	++	296	33A	+
259	16D	++	297	35A	+
260	27D	++	298	36A	+
261	31D	++	299	37A	+
262	32D	++	300	38A	+
263	62D	++	301	40A	+
264	71D	++	302	41A	+
265	72D	++	303	42A	+
266	73D	++	304	43A	+

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
305	47A	+	343	4B	+
306	48A	+	344	6B	+
307	49A	+	345	9B	+
308	50A	+	346	13B	+
309	51A	+	347	18B	+
310	52A	+	348	21B	+
311	53A	+	349	33B	+
312	54A	+	350	34B	+
313	58A	+	351	35B	+
314	59A	+	352	37B	+
315	60A	+	353	39B	+
316	61A	+	354	44B	+
317	62A	+	355	45B	+
318	65A	+	356	50B	+
319	66A	+	357	51B	+
320	67A	+	358	53B	+
321	68A	+	359	54B	+
322	69A	+	360	55B	+
323	70A	+	361	61B	+
324	71A	+	362	62B	+
325	72A	+	363	64B	+
326	76A	+	364	65B	+
327	77A	+	365	75B	+
328	78A	+	366	76B	+
329	79A	+	367	83B	+
330	82A	+	368	84B	+
331	83A	+	369	6C	+
332	84A	+	370	7C	+
333	85A	+	371	8C	+
334	87A	+	372	11C	+
335	88A	+	373	12C	+
336	89A	+	374	16C	+
337	90A	+	375	17C	+
338	92A	+	376	18C	+
339	93A	+	377	19C	+
340	94A	+	378	24C	+
341	1B	+	379	25C	+
342	3B	+	380	26C	+

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
381	27C	+	419	101C	+
382	30C	+	420	102C	+
383	31C	+	421	107C	+
384	32C	+	422	108C	+
385	34C	+	423	109C	+
386	38C	+	424	111C	+
387	40C	+	425	112C	+
388	41C	+	426	113C	+
389	43C	+	427	124C	+
390	44C	+	428	125C	+
391	47C	+	429	126C	+
392	49C	+	430	127C	+
393	51C	+	431	128C	+
394	52C	+	432	129C	+
395	54C	+	433	130C	+
396	59C	+	434	131C	+
397	60C	+	435	135C	+
398	61C	+	436	136C	+
399	63C	+	437	3D	+
400	72C	+	438	5D	+
401	73C	+	439	6D	+
402	74C	+	440	7D	+
403	75C	+	441	9D	+
404	78C	+	442	10D	+
405	81C	+	443	13D	+
406	82C	+	444	14D	+
407	86C	+	445	15D	+
408	87C	+	446	17D	+
409	88C	+	447	20D	+
410	89C	+	448	21D	+
411	90C	+	449	26D	+
412	91C	+	450	30D	+
413	92C	+	451	34D	+
414	93C	+	452	39D	+
415	96C	+	453	41D	+
416	97C	+	454	75D	+
417	98C	+	455	76D	+
418	99C	+	456	78D	+

Continuación...

Cultivo puro	Código	Calificativo	Cultivo puro	Código	Calificativo
457	80D	+	467	117D	+
458	91D	+	468	119D	+
459	92D	+	469	123D	+
460	97D	+	470	136D	+
461	98D	+	471	137D	+
462	99D	+	472	138D	+
463	103D	+	473	139D	+
464	108D	+	474	151D	+
465	109D	+	475	152D	+
466	110D	+			