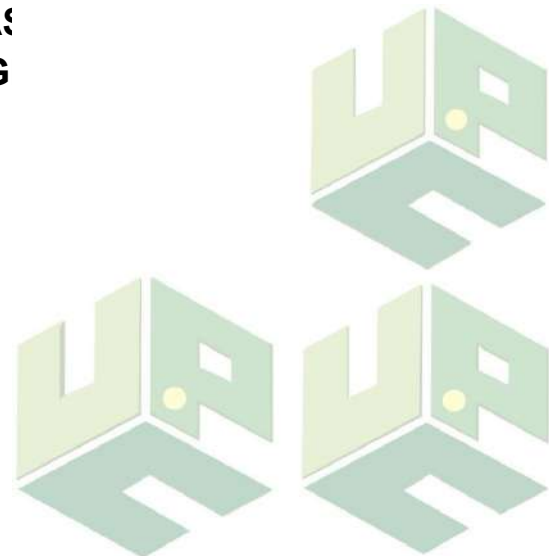


**EFFECTIVIDAD DE *Bacillus subtilis* COMO PROMOTOR DE  
CRECIMIENTO SOBRE *Brachiaria decumbes* EN SUELOS  
CONTAMINADOS CON METALES PESADOS**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR  
FACULTAD CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA  
VALLEDUPAR - CESAR  
2023**



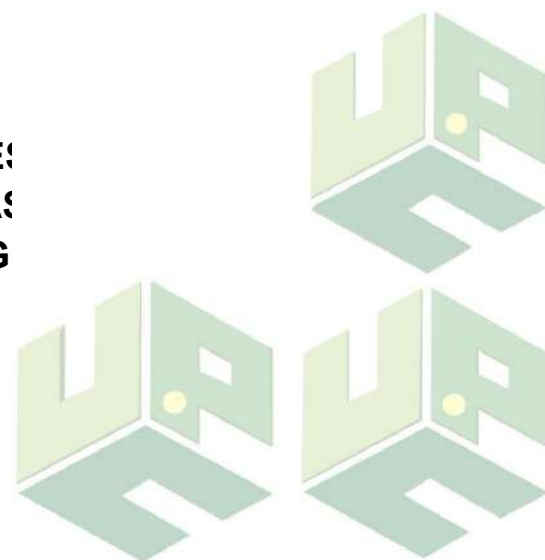
**EFFECTIVIDAD DE *Bacillus subtilis* COMO PROMOTOR DE  
CRECIMIENTO SOBRE *Brachiaria decumbes* EN SUELOS  
CONTAMINADOS CON METALES PESADOS**

*Proyecto de grado presentado como requisito para optar al título de:*  
**Microbiólogo**

**ANA MARÍA OCHOA ARIAS  
ÁNGEL ENRIQUE TORRES NAVARRO**

**DIRECTORA  
ASLENIS EMIDIA MELO RIOS  
Microbióloga, Msc. Gestión de Auditorías – Orientación en  
Tecnología e Ingeniería Ambiental, Doctorando en Educación**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR  
FACULTAD CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA  
VALLEDUPAR - CESAR  
2023**



**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

---

**Firma del presidente del jurado**

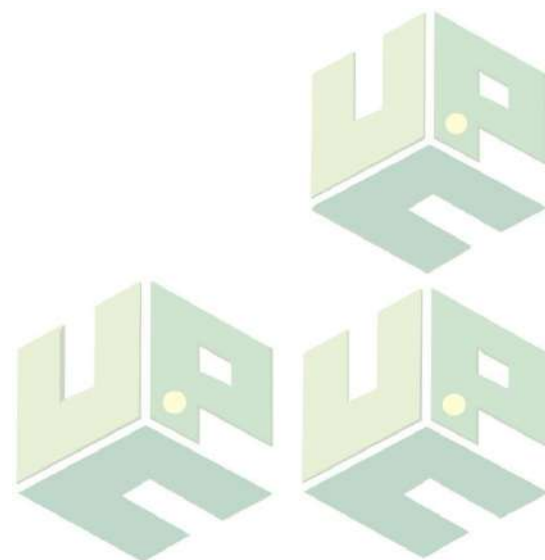
---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

Valledupar, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2023

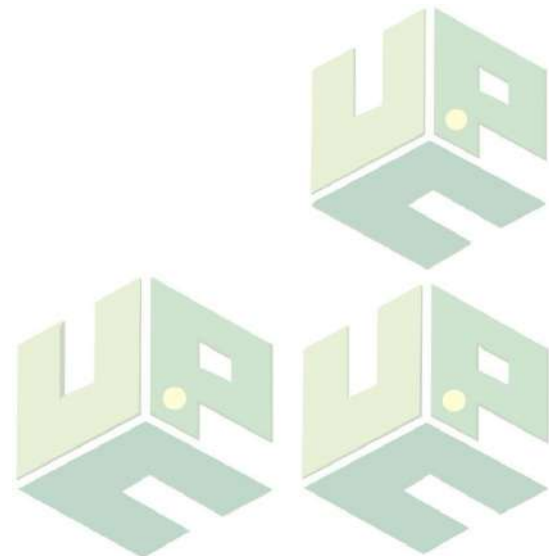


## AGRADECIMIENTOS

En agradecimiento a todas las personas que hicieron participe en este proyecto con apoyo incondicionalmente para poder cumplir este objetivo académico. Con su entusiasmo nos dieron el valor para lograr nuestras metas y nunca rendirnos frente a dificultades y las adversidades. Y de manera que también nos dieron soporte económico y guía académica, lo cual estamos infinitamente agradecidos por sus granos de arenas aportados. En agradecimiento también a nuestra tutora Aslenis Melo por su dedicación y ser nuestra guía en este proceso que nos ha llevado hasta esta meta, que sin ella no hubiésemos podido llegar. Gracias por todos sus consejos, la recordaremos siempre en nuestras mentes y la tendremos encuentra en nuestro futuro profesional.

A nuestros docentes que estuvieron impartiéndonos conocimientos y estuvieron siempre al pendiente que estuviéramos aprendiendo, a todos ellos mil gracias por trasmitirnos conocimiento y haber tenido paciencia en nuestro aprendizaje y por todo eso habernos permitido haber llegado hoy en día hasta esta instancia. También agradecerles a todos nuestros compañeros de aula por todos los momentos compartidos. Nuestros agradecimientos también a la universidad, a cada uno de los directivos por su trabajo y por sus gestiones, para que esta universidad siga manteniéndose y siguiendo a delante.

Gracias a Dios, por ponerlos en nuestro camino y muchas gracias a todos ustedes.



## DEDICATORIA

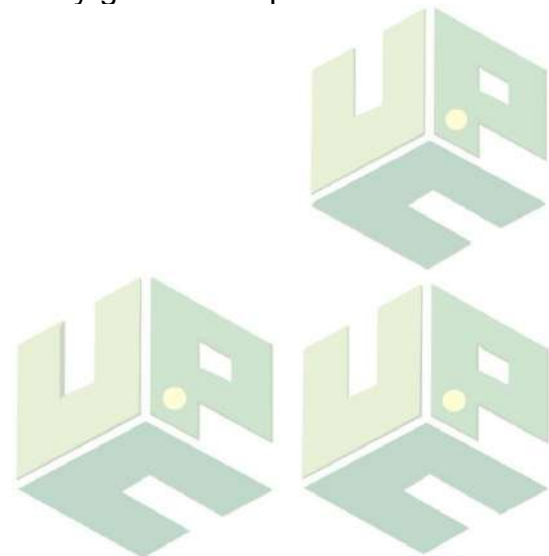
A mi padre y madre Miguel Torres y Teresa Navarro, que han sido esencialmente indispensable en mi camino personal y académico. por su apoyo incondicional y por creer y confiar en mi desde el primer instante. A mis profesores y en especial a Aslenis Melo por sus enseñanzas impartidas con pasión, cariño, amor y respeto.

A mis compañeros y en especial a Darlinson Montes, por el tiempo vivido, compartiendo alegrías, tristezas, angustias, conversaciones constructivas, consejos y apoyo de cada uno de ellos para seguir adelante. A el Alma Mater y a cada una de las personas que la conforman.

**Con cariño, Ángel Torres.**

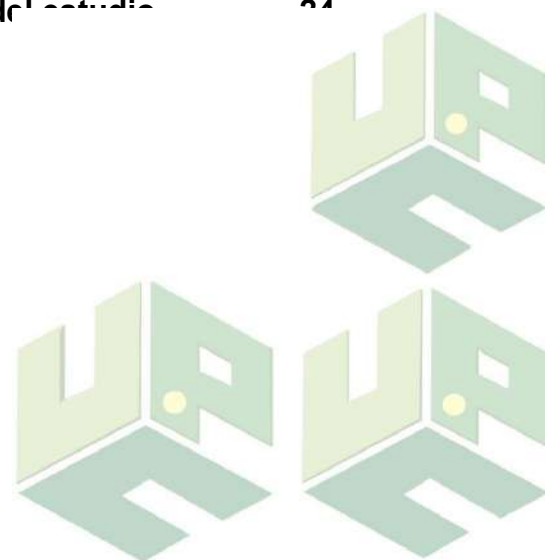
La presente Tesis está dedicada primeramente a Dios por darme la vida , ya que gracias a el pude realizar con satisfacción esta investigación y pude finalizar mi carrera como Microbióloga, a mis padre Efraín José Ochoa Martínez por apoyarme e impulsarme cada día a que yo me formara profesionalmente, a mi madre Darelis Mercedes Arias Villazón por estar cada día conmigo en las luchas y por impulsarme siempre a superar las barreras y dificultades que se presentaron durante el camino, a mi Abuela Materna Adelina Mercedes Villazón Gutiérrez que ya partió de este mundo, pero que en vida mediante sus oraciones intercedió por mi ante Dios y la Virgen dándome fuerzas para salir adelante y guiándome para caminar con sabiduría en los senderos de la vida. Gracias.

**Con mucho cariño, Ana Maria Ochoa.**



## TABLA DE CONTENIDO

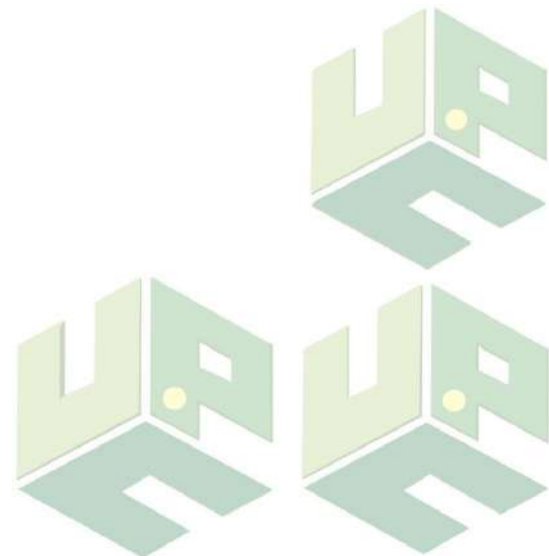
<b>RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>1. PROBLEMA EN ESTUDIO</b>	<b>8</b>
1.1. Título	8
1.2. Planteamiento del Problema	8
1.3. Justificación	11
1.4. Pregunta de investigación	12
1.5. Hipótesis	12
1.6. Objetivos	12
1.6.1. Objetivo General	12
1.6.2. Objetivos Específicos	12
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>12</b>
2.1. Antecedentes	12
2.2. Marco Conceptual	14
2.2.1. Biorremediación	14
2.2.2. Fitorremediación	14
2.2.2.1. Clasificación de las técnicas de fitorremediación	15
2.2.3. Especie vegetal estudiada	16
2.2.3.1. <i>Brachiaria decumbens</i>	16
2.2.4. Microorganismos promotores de crecimiento vegetal	17
2.2.4.1. Bacterias	17
2.2.4.1.1. Mecanismos de acción	18
2.2.5. Suelo	20
2.2.5.1. Propiedades físicas	20
2.2.5.2. Propiedades biológicas	21
2.2.6. Metales pesados	22
2.2.6.1. Cadmio (Cd)	22
2.2.6.1. Plomo (Pb)	22
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>23</b>
3.1. Tipo de estudio	23
3.2. Línea de Investigación	23
3.3. Universo, población, muestra y localización del estudio	24
3.4. Diseño Metodológico	
3.5. Procedimientos	
3.5.1. Muestreo de suelos	
3.5.2. Análisis estadístico	
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	
<b>5. CONCLUSIONES</b>	
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	
<b>7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS</b>	
<b>8. ANEXOS</b>	



## RESUMEN

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo evaluar la eficacia de la bacteria *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento vegetal (PGPR) en *Brachiaria decumbens* y su potencial para desintoxicar suelos contaminados con metales pesados. Se desarrolló un diseño experimental completamente al azar que consistió en 2 ensayos para Cadmio y Plomo cada 1 con 5 réplicas: Control más tóxico (sin inocular bacteria) para Cd y Pb por separado, tratamiento con *B. subtilis* a dosis de  $10^{-8}$  UFC más metal pesado y tratamiento combinado de *B. subtilis* a dosis de  $10^{-8}$  UFC con metal pesado, las dosis empleadas fueron Cd (100 y 500mg) y Pb (100 y 500mg). El crecimiento vegetal del pasto fue determinado a partir de la longitud del tallo, longitud de raíces, biomasa total húmeda y tasa de germinación, sin embargo, la inoculación bacteriana disminuyó los impactos negativos del estrés causado por Cd en el pasto al mejorar estos parámetros. La cepa de PGPR aumentó la longitud del tallo (23,6 – 46,51%), longitud de la raíz (31,6 – 49,8%), biomasa total húmeda (60,71 – 89,3%) y la tasa de germinación (69,44 – 92,86%) en plantas tratadas con Cd y Pb a dosis de 100mg. Los resultados demostraron que la aplicación de Cd y Pb a niveles de 100mg junto a la rizobacteria aumentan considerablemente el crecimiento de *Brachiaria decumbens*, por otro lado, al aumentar la concentración a 500mg del Pb y Cd se presentó una disminución en el crecimiento del pasto, principalmente hubo un mayor efecto supresor del crecimiento en Pb a 500mg.

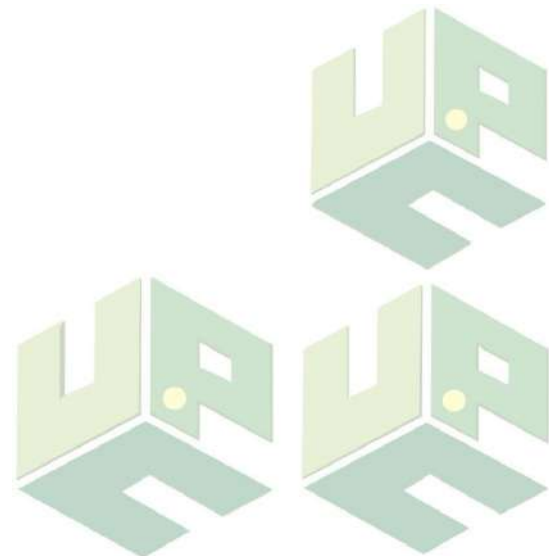
**Palabras claves:** *Biorremediación, PGPR, promoción de crecimiento vegetal y suelos contaminados.*



## ABSTRACT

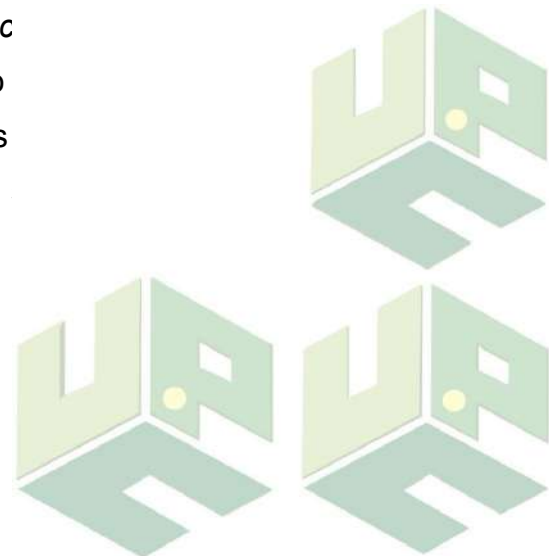
The present research project

**Key words:** *Bioremediation, PGPR, plant growth promotion and contaminated soils.*



## INTRODUCCIÓN

Para este trabajo se ha evaluado la aplicación efectiva de la rizobacteria *Bacillus subtilis* sobre el pasto *Brachiaria decumbens* bajo suelo contaminado con Cd y Pb en el departamento del Cesar. Las actividades económicas antrópicas generan grandes impactos en los ecosistemas, particularmente las actividades primarias extractivista que pueden llegar a causar cambios irreversibles en la región, siendo la minería a cielo abierto una de las actividades antrópicas más empleadas en el caribe seco colombiano transformando un área natural a un terreno árido con alto potencial tóxico que puede degenerar ecosistemas y fuentes hídricas aledañas; lo cual hace necesaria la implementación de estrategias que permitan el aprovechamiento de microorganismos y plantas endémicas de la región para establecerlos en sistemas productivos bajo condiciones de invernadero. El crecimiento de las plantas fue determinado a partir de la medición de la biomasa total húmeda, longitud del tallo, longitud de raíces y tasa de germinación de las semillas. Los resultados demuestran que hubo un aumento significativo en la biomasa, longitud del tallo y raíz siendo una aplicación prometedora que puede generar mayores indicadores de restauración de suelos post-minería. Los resultados sugieren que la adición de PGPR como *Bacillus* son capaces de mejorar la germinación y la tolerancia de las plantas al estrés mediado por la presencia o asimilación de contaminantes como los metales pesados, este trabajo permitió contribuir a la promoción del crecimiento vegetal de las plantas tratadas bajo condiciones ambientales controladas expuestas a metales pesados, de igual forma se observó mejora en las propiedades biológicas en el corto plazo observadas en la biomasa, longitud e índice de germinación. La importancia de este estudio radica en la determinación de la bacteria *Bac* alternativa viable que garantice el aumento del rendimiento al estrés del pasto, especialmente en áreas contaminadas lo cual son comunes en el departamento del Cesar por minera.



## 1. PROBLEMA EN ESTUDIO

### 1.1. Título

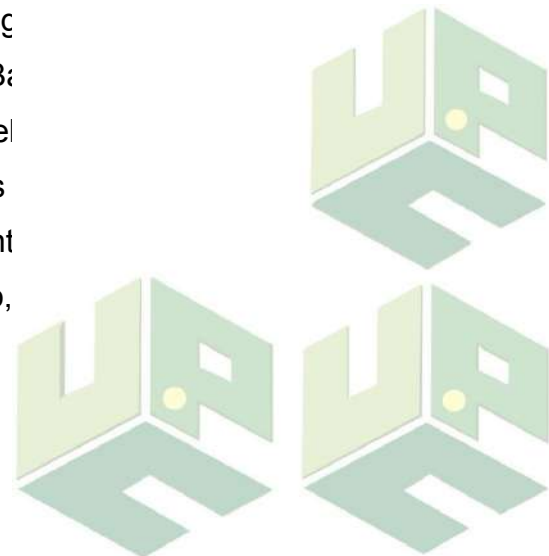
Efectividad de *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento sobre *Brachiaria decumbens* en suelos contaminados con metales pesados.

### 1.2. Planteamiento del problema

El suelo como recurso no renovable, es vital para el desarrollo de muchas actividades económicas a nivel mundial, dependiendo de sus características físicas, químicas y biológicas, puede focalizar su uso en la agricultura, ganadería y minería. Por otro lado, el uso desmedido del suelo puede ocasionar la pérdida de estas características que son indispensables para que este cumpla con su vocación (Serri *et al*, 2018).

Las actividades industriales, minería extractivista, el tratamiento de residuos, la agricultura extensiva y la emisión del uso de combustibles fósiles han facilitado la afección directa de los suelos a nivel mundial. A pesar de que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), han hecho esfuerzos visibilizando los problemas que acarrearán el uso de agroquímicos como una de las principales fuentes de contaminación de los suelos, su producción va en aumento y se espera que para el año 2030 sea un 85% más que la producción actual, afectando de manera significativa el cumplimiento de los objetivos para el desarrollo sostenible (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [FAO], 2022).

En Latinoamérica y el Caribe, se ha identificado que las principales fuentes de contaminación de los suelos, es debido al uso de agroquímicos, especialmente en Colombia y El Salvador. La eliminación inadecuada de los plaguicidas obsoletos es un problema latente, se han estudiado los procesos de degradación pero no se ve una reducción satisfactoria (Pérez, Valderrama y B...  
Por otro lado, se ha identificado que la minería ocupa el primer lugar como productora de contaminación de los suelos, en los países de América Latina. En Jamaica, Brasil, Ecuador, Chile y Argentina se presentan problemas especialmente por la extracción de elementos como el oro,

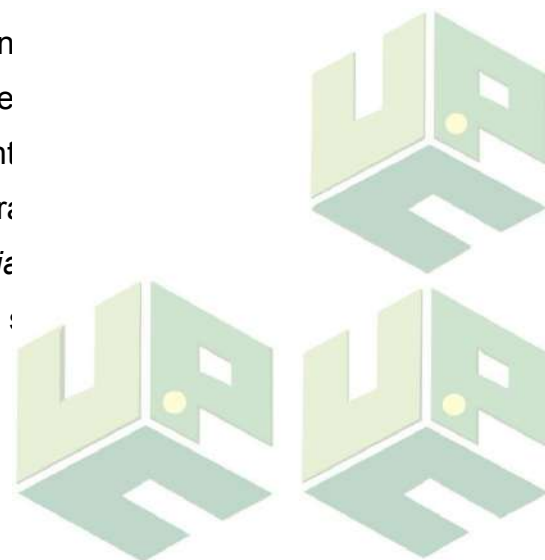


zinc, asociados a la contaminación de los suelos por arsénico, cadmio, cianuro, hierro, mercurio y plomo (FAO, 2022).

Una de las principales fuentes de contaminación debido a la explotación minera, son los metales pesados. Especialmente el cadmio y plomo tienen una incidencia directa en la salud de los consumidores y la capacidad productiva de los suelos. En estudios realizados por Morales y Carmona en el 2007, se identificó que estos dos elementos tenían presencia en los mantos del carbón mineral extraído en Ranchería-Cesar. Aunque su presencia no fue mayor que en otros países como estados unidos o China, si se encontró mayores concentraciones de cadmio y otros metales pesados en comparación a lo esperado.

Adicionalmente los metales pesados tienden a acumularse en fuentes de agua, en suelos y en la fauna circundante. Se han establecido medidas como la biorremediación para eliminar de los ecosistemas estos elementos que afectan la salud de las personas, animales y las características químicas de los suelos. Pero los esfuerzos han sido pocos. Una alternativa estudiada, es el uso de la biomasa de microorganismos específicos en compañía de algunas especies vegetales, han dado resultados satisfactorios (Arrieta, 2019). El uso de microorganismos conocidos como promotores de crecimiento vegetal, en compañía de especies de plantas con capacidad biorremediadora ha sido estudiado (Simón, 2019), pero es importante aclarar que la efectividad de la actividad biorremediadora de las plantas dependerá en gran medida de las condiciones iniciales de los suelos, así como las condiciones ambientales como humedad y temperatura, por lo que es indispensable contar con información que asemeje las condiciones de aplicabilidad en los terrenos de cultivo del departamento del Cesar.

*Bacillus subtilis* es considerada una especie con poten promotor del crecimiento vegetal, su aplicación en suelos de sido demostrado en anteriores investigaciones, no obstant evidencia de su aplicabilidad como bacteria promotora combinación a especies vegetales autóctonas como *Brachia limita su uso como una alternativa a la biorremediación de :*



metales pesados debido a la explotación minera (Beltran, 2020; Acosta y Ramírez, 2010).

### 1.3. Justificación

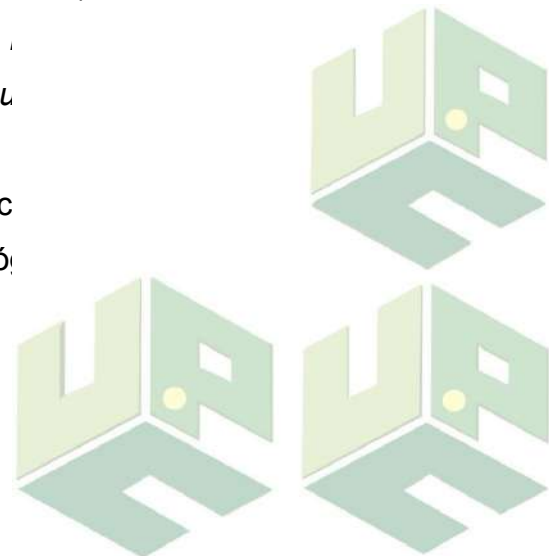
El establecimiento de medidas que disminuyan los impactos negativos de actividades económicas como la minería, ayudan de manera significativa al desarrollo sostenible de sectores productivos como el minero-energético, considerados como vitales para el recaudo fiscal de departamentos como el Cesar, aportando hasta un 42,8% del PIB (Departamento del Cesar, 2020).

La disminución de la acumulación de metales pesados en los suelos es una actividad necesaria para mejorar la productividad y eficacia de los suelos, al aumentar la productividad de este recurso, se permitirá implementar nuevos sectores productivos como la ganadería y la agricultura, permitiendo la salida de materias primas o productos terminados inocuos y con una calidad suficiente para ser competitivos en el mercado (Cristancho y Roa, 2014).

Considerando el impacto de los metales pesados como producto de la explotación minera, y la relevancia de esta actividad para la economía del departamento del Cesar, se hace necesario buscar alternativas que promuevan el restablecimiento de las condiciones ideales de los suelos disminuyendo la concentración de metales como el plomo y cadmio, para permitir un desarrollo agrícola sustentable.

Al existir un aumento de los recursos económicos que el departamento recibe por la productividad industrial se ve reflejado de manera directa en el mejoramiento de las condiciones de vida de la población. Adicionalmente, los recursos que ingresarían al departamento servirían para establecer medidas que disminuyan posibles impactos en salud a la población (Avila y Ponguta, 2021).

La presente investigación se enfocó en el estudio de , promotor de crecimiento vegetal en el pasto *Brachiaria decumbens* para tolerar suelos contaminados con metales pesados, información que nos facilitara el entendimiento de los mecanismos de *Bacillus subtilis* como PGPR que induce cambios morfológicos en *Brachiaria decumbens* en un suelo afectado por metales pesados.



Por lo tanto, esta investigación además de contribuir al conocimiento de organismos empleados para la desintoxicación de suelos contaminados con metales pesados nos permite sugerir alternativas para implementar estrategias biológicas encaminadas a la remediación, recuperación y rehabilitación de los suelos y el ecosistema, y por ende restaurar las propiedades físicas, químicas y biológicas.

#### 1.4. Hipótesis

La aplicación de *Bacillus subtilis* en suelos contaminados con cadmio (Cd) y plomo (Pb), aumentará la capacidad biorremediadora de *Brachiaria decumbes*.

#### 1.5. Pregunta de investigación

¿Puede *Bacillus subtilis* inducir mecanismos de acción que promuevan el desarrollo del pasto *Brachiaria decumbes* en suelos afectados por metales pesados?

#### 1.6. Objetivos

##### 1.6.1. Objetivo general

- Evaluar la efectividad de *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento sobre *Brachiaria decumbes* en suelos contaminados con metales pesados.

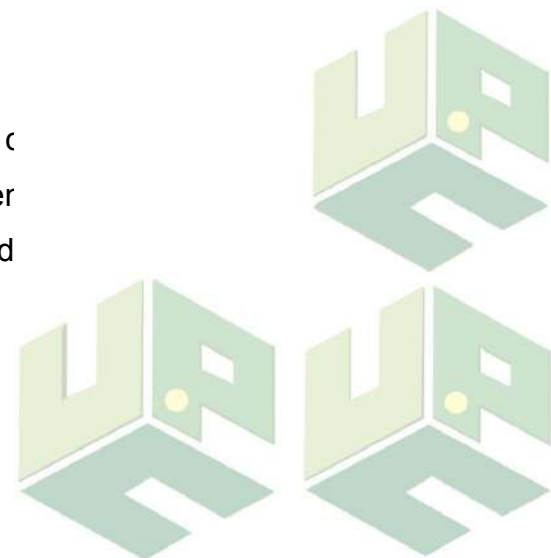
##### 1.6.2. Objetivos específicos

- Evaluar in Vitro la Tolerancia de *Bacillus Subtilis* a los metales pesados
- Determinar la relación entre la promoción de crecimiento y la tolerancia mediada por *Bacillus subtilis* sobre *Brachiaria decumbes* en suelos contaminados con Pb y Cd.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En la india, Khan *et al.*, en el 2020, investigaron la sideróforos producidos por especies de *Bacillus subtilis*, en con sales de Cadmio. Encontrando que, así como otros sid tuvo una bioacumulación significativa del Cadmio y Hierro.



En la india, Bashir *et al.*, (2022), investigaron la capacidad de *Bacillus subtilis* como bacteria promotora de crecimiento en especies de trigo, en suelos contaminados por metales pesados como el cadmio. Encontrando que, en comparación a otros microorganismos considerados como promotor del crecimiento vegetal, *Bacillus subtilis* demostró una mayor capacidad de aumentar las condiciones de rendimiento de las plantas en suelos estresados con Cadmio.

En la india, Ullah *et al.*, (2020), estudiaron la capacidad de crecimiento de especies de *Brachiaria sp.* en suelos contaminados con metales pesados como cobre, cadmio y plomo, encontrando que la bioacumulación se da principalmente en las raíces de estas mismas.

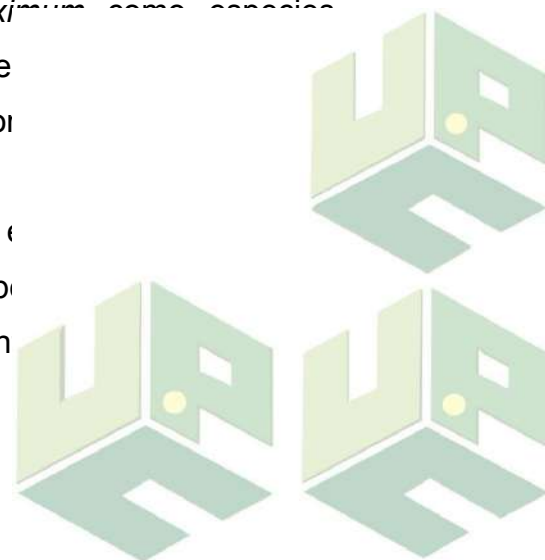
En Brasil, Borgues *et al.*, (2016), investigaron el impacto de metales pesados como cobre, plomo y cadmio en el crecimiento adecuado de especies de *Brachiaria decumbes* identificando que es altamente sensible especialmente al cobre, debido a que la planta cuenta con un potencial importante de remoción de estos compuestos en suelos contaminados.

En Brasil, Costa y Duta, (2001), identificaron la capacidad de bioacumulación de metales pesados como zinc, cadmio, plomo y cobre en especies de *Bacillus sp.* Encontrando que en particular *Bacillus subtilis* tenía un mayor rendimiento de bioacumulación especialmente en Zinc, Plomo y Cadmio.

En Colombia, Cristancho y Roa (2014), estudiaron la aplicabilidad de *Brachiaria decumbes* para la remoción en cultivos de arroz, el arsénico que se pueda encontrar en los suelos. Encontrando que existió una remoción importante de este compuesto principalmente acumulándose en la zona radicular de las plantas.

En el departamento de Cundinamarca, Avila y Ponguta, (2021), investigaron la aplicabilidad de *Brachiaria decumbes* y *Panicum máximum* como especies vegetales con potencial biorremediador, encontrando que existía una extracción significativa de metales pesados como Cadmio.

En Colombia, Valero, Beleño y Cancillo, (2011), estudiaron microbianas nativas asociadas a la microbiota de 2 tipos: *domingensis* y *Cenchrus ciliaris* aisladas en microambien



partículas de carbón en la mina el Cerrejón, obteniendo como resultados que las bacterias nativas aisladas tienen la capacidad de degradar el carbón de bajo rango resultante del proceso de explotación minera de carbón en los departamentos Guajira y Cesar.

## **2.2. Marco conceptual**

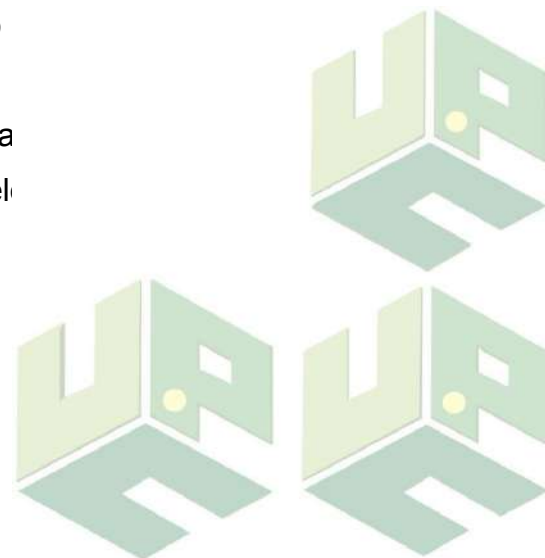
### **2.2.1. Biorremediación**

La biorremediación es el uso de microorganismos (normalmente, bacterias heterótrofas y hongos) y su potencial metabólico para degradar, eliminar o transformar los posibles contaminantes en productos inocuos como agua, sales inorgánicas, CO<sub>2</sub> y/o biomasa. En comparación a otras técnicas tradicionales, esta cuenta con la ventaja de ser más económica y no afecta el comportamiento de los recursos ambientales (Beltran y Gomez, 2016).

La capacidad de las poblaciones microbianas frente a la contaminación de los suelos se fundamenta en su capacidad metabólica. Normalmente cuando ocurren procesos de contaminación de los suelos, las cepas nativas de los mismos se adaptan para poder usar como soporte los sustratos considerados como contaminantes, transformándolos en materia orgánica húmica. A pesar, que en la mayoría de los casos las cepas autóctonas suelen adaptarse de una manera muy eficiente a la degradación de posibles contaminantes, existen ciertos contaminantes considerados como raros a los cuales es necesario incluir o aumentar de manera significativa en el suelo (Chávez, 2022).

### **2.2.2. Fitorremediación**

La fitorremediación, fitolimpieza o fitocorrección es el uso remoción, neutralización, estabilización, transferencia contaminantes en medios acuáticos y sólidos contaminados plaguicidas, hidrocarburos, metales pesados, explosivos, el radiactivo entre otros (Bakshe, P., & Jugade, R., 2023).

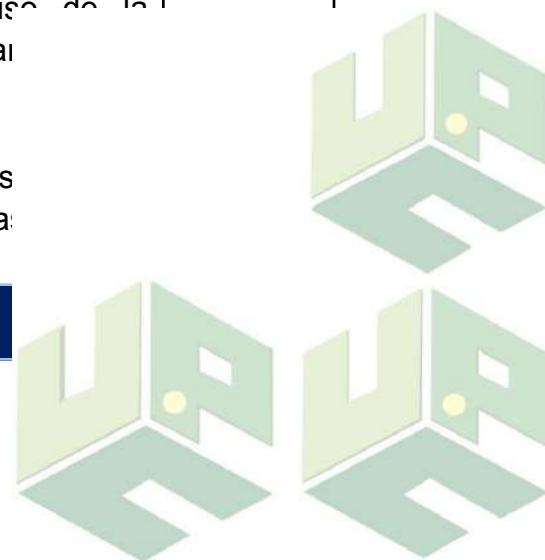


### 2.2.2.1. Clasificación de las técnicas de fitorremediación.

A nivel general existen dos estrategias de fitorremediación: La eliminación o retención de estos.

**Tabla 1: Clasificación de las técnicas de biorremediación.**

Eliminación de contaminantes		Fuente
<b>Fitoextracción</b>	Es el uso de la habilidad con que cuenta algunas plantas de absorber metales pesados de suelos contaminados y bioacumularlos (fitoacumulación) para posteriormente ser eliminación ya sea por incineración o transformación en abono vegetal.	Tonelli, Tonelli, Lemos & Nunes, 2022.
<b>Fitovolatilización</b>	Es el uso de algunas especies de plantas que a través de su capacidad extractora de agua, pueden llevar algunos componentes contaminantes orgánicos hasta las hojas y facilitar su evaporación.	Tonelli, Tonelli, Lemos & Nunes, 2022.
<b>Fitodegradación</b>	Es el uso de la capacidad metabólica de algunas plantas que, a través de procesos enzimáticos, ya sea exógenos e internos pueden degradar compuestos de una manera eficiente en procesos de descontaminación en aguas y suelos hasta transformarlos en no tóxicos o disminuir su toxicidad (en esta categoría se incluye la fito evaporación).	Mercado y Morales, 2021.
<b>Rizofiltración</b>	Es un proceso similar al usado en la fitoextracción, pero aplicado a sistemas acuíferos contaminados. Es el uso de la capacidad radicular de algunas plantas para eliminar metales pesados o contaminantes orgánicos que comprometer la condición de cuerpos de agua. Posterior a esta fitoacumulación las plantas pueden ser quemadas.	
Retención de contaminantes		

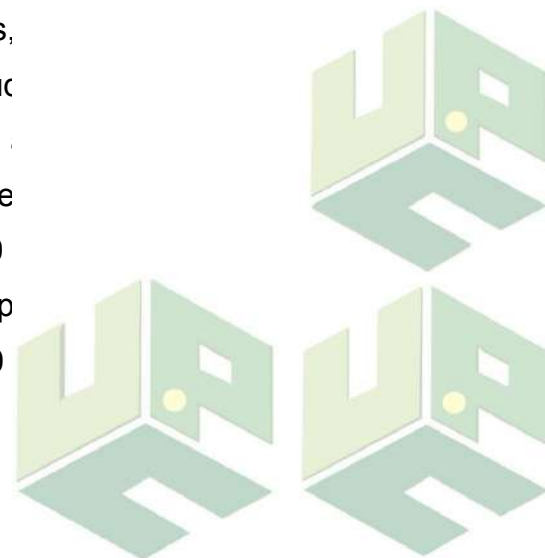


<b>Fitoestabilización</b>	Es el uso de la capacidad de algunas especies para producir productos enzimáticos o algunos elementos que produzcan una reducción de la movilidad de contaminantes orgánicos y no orgánicos, previniendo su migración a aguas subterráneas o aire.	Tonelli, Tonelli, Lemos & Nunes, 2022.
<b>Fitoimmobilización</b>	Es el proceso en que se usa la capacidad del sistema radicular de algunas plantas o el consorcio de microorganismos que habitan en la rizósfera, para minimizar la disponibilidad de metales en el suelo, ya sea mediante la adsorción/absorción, quelación o precipitación de estos contaminantes. Transformando así, compuestos orgánicos o inorgánicos en formas que no se puedan asimilar biológicamente.	Mercado y Morales, 2021.

### 2.2.3. Especie vegetal estudiada

#### 2.2.3.1. *Brachiaria decumbes*

También conocido como pasto peludo, es una especie de gramínea perenne originaria de Uganda, en el África tropical. Se comporta bien desde 0 a 2200 msnm, en zonas que oscilan a temperaturas de 18 a 28°C y con grados de precipitación anual entre 1000 y 4500mm, suele crecer en suelos pobres con buen drenado, pero no persiste en suelos bajos e inundables (Gomes, Marques, Nogueira, Castro & Soares, 2011; Peláez-Peláez, Bustamante Cano, & Gómez López, 2016). Se caracteriza por tener hábitos de crecimiento rastroso y estolonífero, estolones largos arraigan en los nudos formando una pastura densa, sus hojas son lanceoladas, pubescentes y una inflorescencia en forma de panícula con dos o cinco racimos extendidos o semirectos (Gomes, peludo presenta valores superiores al 12% de proteína cruda rebrote, llegando a disminuir dicho valor significativamente (2015). El pasto peludo no es muy exigente en cuanto a fertilidad para su establecimiento se recomienda la aplicación de 50 kg/ha de fertilizante NPK (Low, 2015; Borges, D'Avila, Camp & Galvan, 2016). Su periodo de crecimiento va de 90 a 120



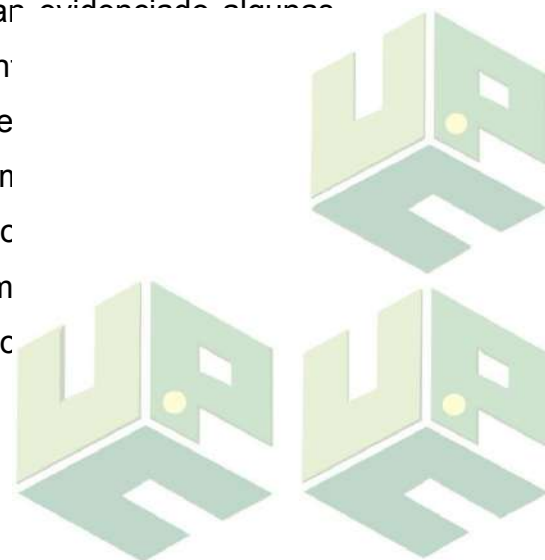
uso para pastoreo después de los 40 meses. Su uso también puede darse para pasto de corte, ensilaje y henificación (Low, 2015).

Se han realizado investigaciones en donde se ha demostrado la capacidad de esta especie para fitoacumulación de metales pesados, a su vez, se ha estudiado la capacidad de tolerancia de esta especie frente a suelos contaminados con distintos metales pesados, obteniendo una buena resistencia (Gomes et al., 2011).

#### **2.2.4. Microorganismos promotores de crecimiento vegetal**

El suelo se considera como uno de los hábitats propicios para el crecimiento microbiano. Se estima que aproximadamente cada gramo de suelo puede tener hasta 10<sup>9</sup> UFC y 10<sup>4</sup> especies microbianas. Estos suelen estar asociados directamente con la rizósfera debido al flujo constantes de exudados radicales, ricos en compuestos orgánicos que son fácilmente asimilables por los microorganismos, aportando a la variabilidad metabólica de los mismos, pudiendo se encontrar diferentes tipos de interacciones con la planta que van desde simbioses mutualistas, saprofitos e incluso patógenos (Cabrera, Bonilla y Aguilar, 2018).

El mutualismo ha sido una de las interacciones más estudiadas en los últimos años, puesto que se ha utilizado como herramienta del mejoramiento productivo en la agricultura, desestimando el uso de elementos químicos que puedan alterar significativamente los suelos a largo plazo (Acosta Olaya & Ramírez Pisco, 2010). Se han identificado efectos beneficiosos como la estimulación del desarrollo de las raíces, favorecimiento de la germinación de algunas semillas y la producción directa de metabolitos que ayudan significativamente al metabolismo de las plantas, como la producción de vitaminas, fitohormonas y otras sustancias (Bhattacharyya & Jha, D.K., 2012). Adicionalmente se han evidenciado algunas actividades indirectas de la presencia de una alta cantidad de microorganismos en los suelos, como la formación de complejos de generación sideróforos, y producción de formas asimilables de nitrógeno inorgánicos beneficiosos para el crecimiento microbiano. Algunas especies de microorganismos suelen tener un comportamiento simbiótico con algunas especies, por lo cual se les han reconocido



heterogéneo llamados microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPR), utilizando diferentes mecanismos de acción como el antagonismo de especies fitopatógenas, producción de biofertilizantes o elementos asimilables por las plantas y la producción de fitohormonas (Bhattacharyya & Jha, D.K., 2012; Rodríguez, 2013).

#### 2.2.4.1. Bacterias

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal son un grupo heterogéneo de especies que ayudan mediante diferentes vías metabólicas el desarrollo de vegetal, ya sea solubilizando elementos haciendo que estén biodisponibles para las plantas, ayudando a la asimilación del nitrógeno inorgánico, produciendo fitohormonas que mejoran el rendimiento de metabolismos de alimentación vegetal, la eliminación de agentes fitopatógenos, interacción sinérgica con otros microorganismos de la rizósfera, entre otras acciones (Cabrera, Bonilla y Aguilar, 2018).

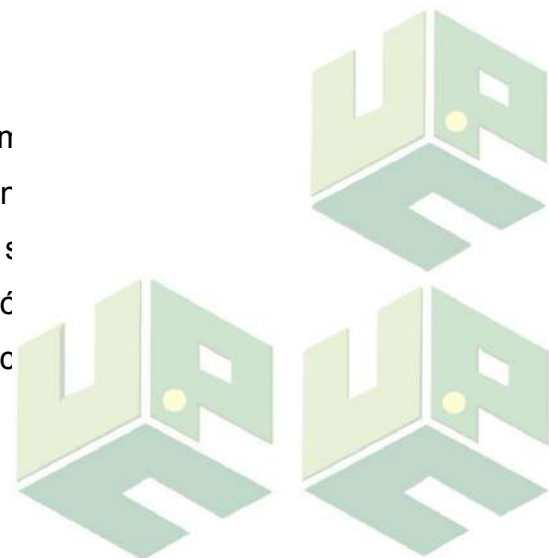
Estas bacterias pueden ser asociativas o de vida libre, pudiendo ser aerobias, aerobios facultativas y anaerobias. Encontrándose una alta variabilidad de especies que van desde *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense* y *A. amazonense*; *Herbaspirillum seropedicae*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Enterobacter agglomeran*, *E. cloacae*, *Bacillus* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Klebsiella* sp., y bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Pseudomonas* (Diaz, Molina, Tapias, 2020).

##### 2.2.4.1.1. Mecanismos de acción

Dentro de los tipos de mecanismos de acción de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal podremos encontrar:

#### Mecanismos directos

- **Fijación Biológica de Nitrógeno:** Los principales n de nitrógeno en bacterias promotoras del crecimier sintetizar en microorganismos simbióticos, que s formando nódulos que facilitan la absorción de nitró raíces, por otro lado, se encuentran especies bac



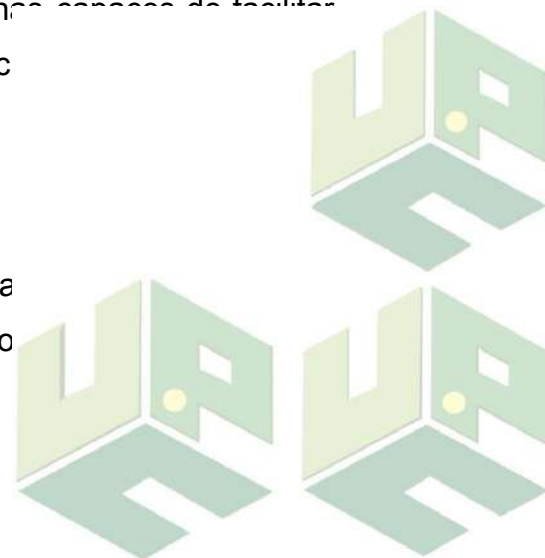
como *Azospirillum* o *Azoarcus* entre otras, que presentan la enzima nitrogenasa, lo que les permite asimilar el nitrógeno ambiental, haciéndolo asimilable por el sistema radicular de las plantas (Bautista y Martínez, 2020).

- **Biosolubilización de fosfatos:** Otro elemento considerado como limitante en el crecimiento vegetal es el fósforo. Paradójicamente el suelo está lleno de reservas de fósforo no asimilable por organismos, debido a que se encuentra en formas químicas incompatibles. Existen bacterias del género de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter* entre otras, que usan los carbohidratos disponibles en la rizósfera, produciendo ácidos orgánicos que sirven como quelantes, eliminando Calcio, Hierro, Magnesio y Aluminio, que acompañan al fosforo imposibilitando su asimilación orgánica. Otra estrategia identificada es el uso de microorganismos que presentan la enzima fosfatasa, que permite la liberación de moléculas orgánicas de fosforo en la materia orgánica muerta disponible en la rizósfera (Puetate, 2019).
- **Producción de fitohormonas:** Algunas bacterias de los géneros de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, entre otras. Son capaces de producir hormonas que ayudan a la regulación de crecimiento vegetal, extensión de las raíces y división celular. Dentro de las principales fitohormonas se reconocen las Auxinas (indol-3-ácido acético: IAA y indol-3-ácido butírico) utilizadas para mejorar la elongación y la absorción del sistema radicular de las plantas; Giberelinas (GA1, GA2, GA3 y GA20), su uso favorece el crecimiento del tronco y hojas de las plantas y Citoquinas, precursoras de las purinas, son hormonas capaces de facilitar el crecimiento de brotes y ayudan al crecimiento inicial (Bautista y Martínez, 2021).

### Mecanismos indirectos

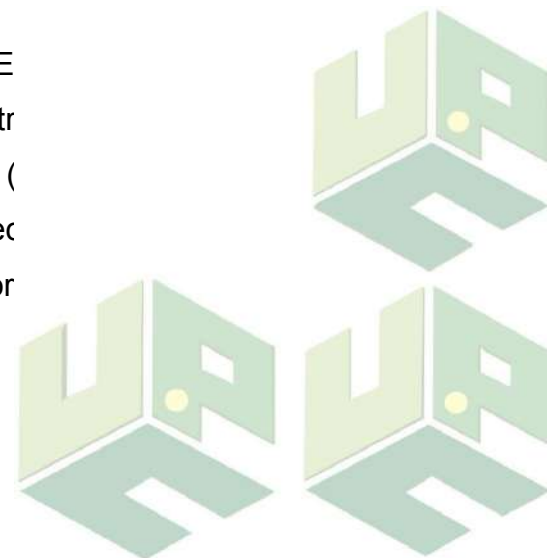
- **Mecanismos de biocontrol**

- ✓ **Antibióticos:** Algunas especies bacterianas funcionan como microorganismos promotores



vegetal producen antibióticos efectivos que favorecen la colonización de estas bacterias simbióticas a la rizósfera de las plantas. Estos antibióticos pueden ser tan selectivos que se ha estudiado su aplicación directa en suelos agrícolas caracterizados (Camelo, Vera y Bonilla, 2011).

- ✓ **Sideróforos:** El hierro es un nutriente esencial para las plantas, ayuda a procesos como la fotosíntesis y la fijación del nitrógeno. A pesar de que algunas plantas tienen la capacidad de producir ciertas sustancias quelantes, el efecto de algunas bacterias del género de *Pseudomonas spp.*, han demostrado una eficiencia considerable en la producción de sideróforos con grupos funcionales como los catecoles e hidroxamatos, ayudando a mejores rendimientos en la producción vegetal (Santoyo et al., 2020).
- ✓ **Enzimas líticas y metabolitos antifúngico:** Las quitinasas, proteasa, glucanasas y celulasas producidas por algunas especies del género de *Bacillus* y *Pseudomonas*, han demostrado mantener controlada la producción de hifas de hongos fitopatógenos, esto favorece la producción vegetal, pues disminuye la actividad metabólica que debe presentar las especies vegetales para contrarrestar el efecto de los hongos fitopatógenos, a su vez, se ha demostrado que estas mismas enzimas ayudan de manera selectiva a la eliminación de especies bacterianas consideradas como fitopatógenas (Cordero et al., 2016).
- ✓ **Controladores de estrés (Etileno):** E ampliamente como el compuesto del estrés abiótico en las plantas. Se ha identificado ( que algunas bacterias promotoras del crecimiento aumentan la capacidad de interceder en los precursor



favoreciendo la capacidad de las plantas frente al estrés ambiental (Díaz y Cespedes, 2021).

- ✓ **Compuestos orgánicos volátiles:** Los compuestos orgánicos volátiles, son normalmente productos de la degradación de la glucosa, teniendo una multiplicidad de efectos en las plantas, que van desde la promoción del crecimiento vegetal, atraer especies de insectos para procesos de polinización, repeler microorganismos e insectos considerados como patógenos para las plantas, control de hongos y bacterias fitopatógenas, y se han identificado como compuestos capaces de inducir la defensa de insectos en las plantas (De Clerk y Borrero, 2018).

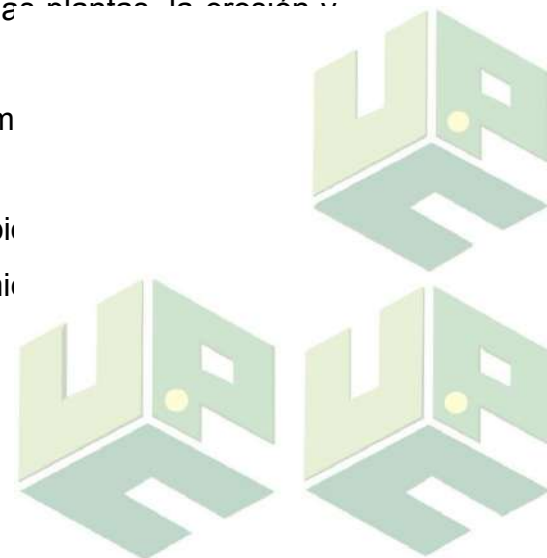
### 2.2.5. Suelo

El suelo se considera como el componente fundamental de ambiente, constituido por minerales, agua, aire, material orgánico, micro y macrofauna, y microorganismos que desempeñan procesos bióticos y abióticos, cumple una función vital para el planeta y la sociedad. Considerando que su límite superior puede ser el agua o el aire, este cubre la mayor parte de la superficie del planeta (Martínez, Fuentes y Acevedo, 2008).

#### 2.2.5.1. Propiedades físicas

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, las principales características del suelo son:

- **Estructura del suelo:** El suelo se puede agrupar en peds, considerando las diferentes partículas del suelo como arena, limo y arcilla. Cada combinación estructural impacta directamente en la aireación, la conducción térmica, el crecimiento radicular de las plantas, la erosión y el movimiento del agua en el suelo.
- **Profundidad del suelo:** El suelo está conformado por horizontes que son llamados desde la A hasta la E. En estas capas se lleva a cabo procesos físicos y biológicos. La profundidad le da características del comportamiento.

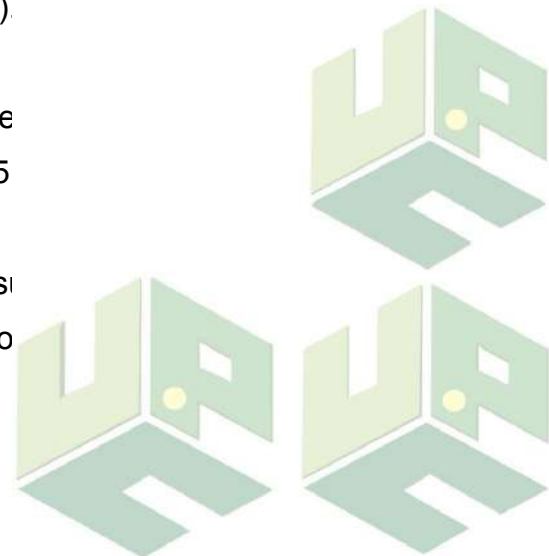


- **Características del agua en el suelo:** El flujo en el suelo afecta de manera directa en la formación del suelo, la generación de las distintas estructuras, la estabilidad y la erosión.
- **Disponibilidad del agua en el suelo:** Se le llama capacidad del campo a la cantidad de agua que el suelo es capaz de retener luego de saturarse y dejarse drenar libremente hasta la estabilidad del potencial hídrico.
- **Textura del suelo:** La textura de los suelos es la proporción de componentes orgánicos de diferentes formas y tamaños, como la arena, arcilla o limo. Esta textura es un indicador de la fertilidad de los suelos, así como de su capacidad de aireación, drenaje, retención de agua entre otras propiedades.
- **Color del suelo:** El color del suelo es un indicador de la composición del suelo, si bien se puede afectar por el contenido de humedad, una correcta caracterización de este color puede hablar del material parental, cantidad de fase orgánica, presencia de sales y el estado del drenaje.
- **Consistencia del suelo:** Es la capacidad que tienen los suelos para resistir la deformación o ruptura cuando se aplica algún tipo de fuerza sobre él. Este se ve afectado por la cantidad de humedad y puede ir desde suave, dura y muy dura.
- **Porosidad del suelo:** Se refiere al volumen del suelo no ocupado por sólidos, normalmente el espacio poroso del suelo oscila entre el 50%, pudiéndose encontrar desde macroporos hasta microporos dentro de estos espacios se pueden ubicar distintos tipos de nutrientes, agua, gases y aire (Martínez, Fuentes y Acevedo, 2008).

#### 2.2.5.2. Propiedades biológicas

El contenido de materia orgánica en el suelo normalmente puede oscilar entre un 2%, lo que corresponde a un 95% orgánica seca de los suelos (Trinidad, 2016).

Por otro lado, los microorganismos y microfauna en los suelos son determinante en la producción de suelos fértiles, los micro



papel determinante en la formación de los suelos desde la dura madre, hasta cada una de las fases de horizonte E hasta el A. La diversidad y cantidad de microorganismos es un factor indispensable para creación de suelos altamente competitivos para procesos productivos (Sandler, 2019).

### **1.1.1. Metales pesados**

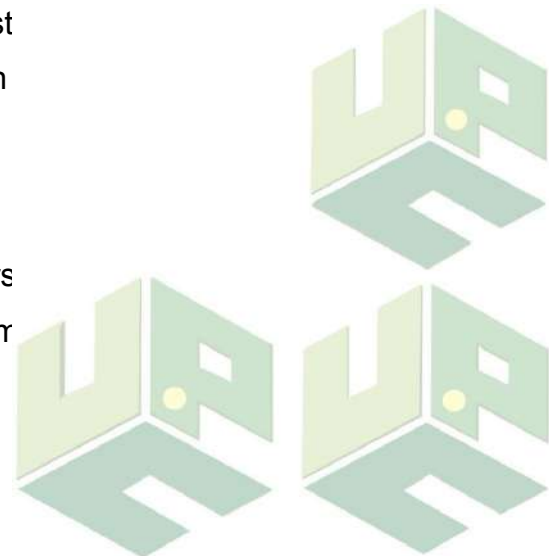
Los metales pesados se consideran al grupo de elementos químicos de la tabla periódica con alta densidad, y que tienen la capacidad de desplazar o reemplazar otros elementos indispensables para el funcionamiento correcto de algunos organismos. Si bien algunos de estos minerales son considerados como micronutrientes para algunos organismos, en algunos casos pueden ser tóxicos si sobrepasan ciertas concentraciones o umbrales. A pesar de que existen un número definido de metales pesados, solo un grupo pequeño son movilizados por las actividades humanas como lo son: Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Plata (Ag), Arsénico (As), Cobre (Cu), Mercurio (Mg), Níquel (Ni), Talio (Tl), Antimonio (Sb) y Estaño (Sn) (Reyes *et al.*, 2016).

#### **2.2.5.3. Cadmio (Cd)**

El cadmio es considerado uno de los metales pesado con más alta probabilidad de contaminación de los suelos, al ser un metal pesado tiene la capacidad de bioacumularse en plantas y ser consumido por los humanos u otra especie que sea consumida por los humanos. Según Zhang, Guo, Fan, Wang, Shi, Zhang & Zhang, J. (2021), este metal en el suelo puede causar estrés y déficit del crecimiento vegetal, por lo que es uno de los analitos de estudio cuando se quiere determinar la vocación de los suelos para la ganadería o la agricultura. En el cuerpo humano puede causar síntomas inespecíficos mientras está en proceso de bioacumulación, que van desde problemas hepáticos, hasta algunos órganos hematopoyéticos, el límite de cadmio en (Zhao, Deng, Lin, Zeng & Zhong, 2020).

#### **2.2.5.4. Plomo (Pb)**

El plomo es uno de los elementos que suelen encontrarse como contaminantes por la producción de actividades hurr



producción de elementos electrónicos como baterías, cables y algunos componentes de equipos tecnológicos. Se ha identificado que suele ser uno de los elementos con mayor capacidad de acumularse en las plantas como frijoles, maíz, fresa, calabaza, lechugas etc. El consumo constante de especies vegetales contaminadas con este elemento produce la bioacumulación del mismo en algunos órganos humanos como los riñones y el sistema nervioso, causando síntomas inespecíficos que pueden llegar hasta la muerte. La concentración aceptada de este compuesto en suelos agrícolas es de 300 ppm (Peláez, Bustamante y Gómez, 2016).

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo de estudio

Esta investigación es de tipo experimental de corte transversal.

#### 3.2. Línea de investigación

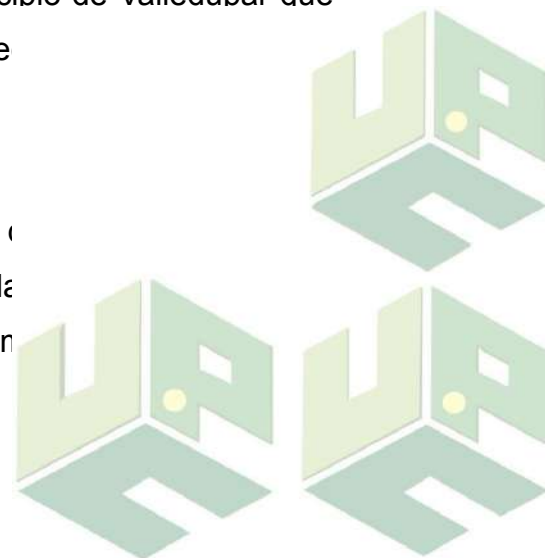
Esta propuesta de investigación se encuentra enmarcada bajo la línea de investigación Bioprospección dentro del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

#### 3.3. Universo, población, muestra y localización del estudio

Este estudio tuvo como población únicamente a la especie vegetal *Brachiaria decumbes* biofertilizado con *Bacillus subtilis* en suelos afectados con Pb y Cd. Se realizó durante 1 mes en el laboratorio del grupo de Investigación PARASITOLOGÍA-AGROECOLOGÍA MILENIO (PAM), y en campo abierto en el corregimiento de la Vega Arriba ubicado al norte del municipio de Valledupar que cuenta con una temperatura media anual de 27,3 °C y precipitación de 776,7 mm/año (IDEAM, 2019).

#### 3.4. Diseño metodológico

Este estudio se realizó en 3 fases, en la primera fase se realizó *in vitro*, inicialmente con un primer ensayo donde se evaluó la actividad de *B. subtilis* expuesto a determinadas concentraciones de nitrato de plomo y cadmio.



100mg, 500mg) (Pb 100mg, 500mg) se preparó una suspensión de *Bacillus* y mediante diluciones seriadas se determinó la concentración del microorganismo a inocular en determinada cantidad de suelo en conjunto con las semillas de *Brachiaria Decumbes* y determinadas concentraciones de metales pesados (Cd, Pb). La segunda fase se realizó a campo abierto, se usaron recipientes donde se preparó determinada concentración de suelo (500g) en conjunto con determinada concentración de *Bacillus subtilis* (10<sup>8</sup> UFC) bajo 2 tratamientos de Nitrato de plomo ( $Pb_2NO_3)_2$ ) a dosis de (500mg)(100mg) y Nitrato de Cadmio Tetrahidratado ( $CdN_2O_6 \cdot 4H_2O$ ) a dosis de (500mg) (100mg) con 5 réplicas y 5 réplicas de control cada una, la 3era y última fase se desarrolló dentro en el laboratorio del grupo PAM enfocada a la medición de parámetros como longitud radicular, Longitud del tallo, Biomasa Total y porcentaje de Germinación expresado por los mecanismos de acción de *Bacillus subtilis*.

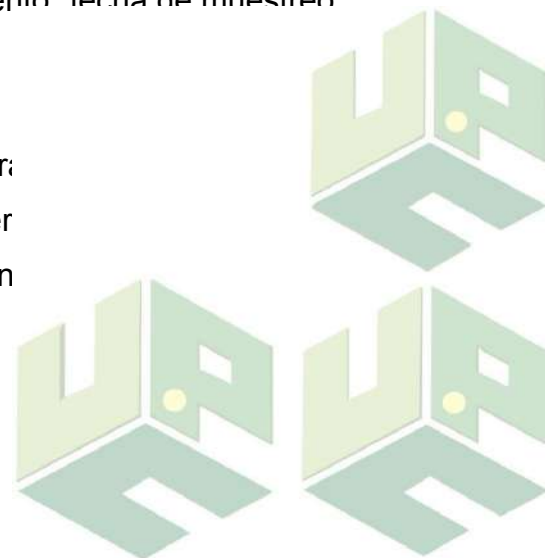
### **3.5. Procedimientos**

#### **3.5.1. Muestreo de suelos.**

Con una pala y una bota limpia se procedió a tomar una muestra representativa a lo largo de toda la superficie plantada, procurando un tamaño de muestra que cubra una dimensión de 25 cm x 25 cm y una profundidad de 10 cm, se realizó un cambio al método de muestreo propuesto, manteniendo los 2 cm de capa de suelo en donde se halla la actividad radicular. Se procedió a homogenizar la muestra revolviéndola con cuidado, posterior a esto se procedió a empacar aproximadamente 15 kg del suelo en una bolsa limpia, finalmente se procedió a rotular las muestras con la información del tipo de tratamiento, fecha de muestreo y observaciones si aplica (Agustín Codazzi, 2022).

#### **3.5.2. Análisis estadístico**

Para el análisis de resultados, especialmente los parámetros morfobiométría de las plantas, se les determinó sus diferencias a través de su estimación de medias y se les realizó un



empleando la Prueba de Duncan  $P < 0,05$  mediante el uso del software IBM SPSS statistics

También se utilizó la Prueba de Tukey que es un método que tiene como fin comparar las medias individuales provenientes de un análisis de varianza de varias muestras sometidas a tratamientos distintos.

+

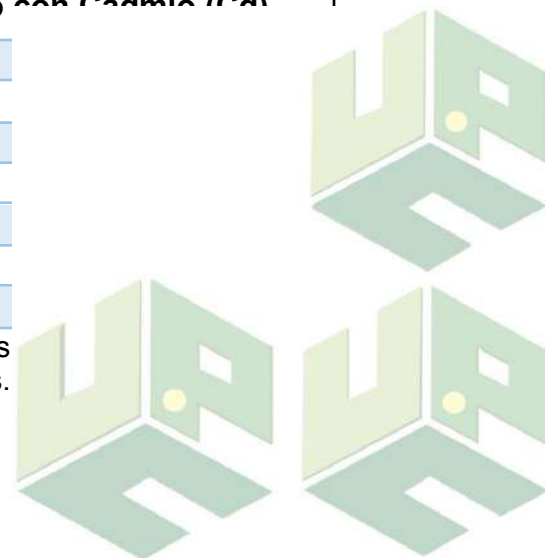
#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

##### **Bioensayo con la PGPR *Bacillus subtilis* y Cd sobre *Brachiaria decumbes***

Para la determinación del parámetro de longitud del tallo máx., los resultados registran que los tratamientos aplicados con la bacteria *Bacillus subtilis* y el metal tóxico de Cd mejoraron significativamente la longitud del tallo del pasto, en comparación con el tratamiento control sin aplicación de la rizo bacteria (**Fig.1**), según la Prueba de Tukey  $< 0,05$ . (**Tabla 3**).

Réplicas	Control	Tratamiento 100mg
R1	6.5	8.8
R2	5.7	8.2
R3	4.7	8.2
R4	5.8	7.2
R5	3.1	5.4
<b>Promedio</b>	5,16 <sup>a</sup>	7,56 <sup>b</sup>

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos valores de la longitud del tallo máximo de *B. decumbes* a 15 días.



Los resultados de la (Tabla 3) demuestran que la aplicación de *Bacillus subtilis* en conjunto con cadmio pudieron haber causado un aumento en la expresión de mecanismos de acción que mejoraron significativamente la tolerancia y/o supervivencia del pasto expresado a partir del incremento de la longitud del tallo.



Fig.1. Tratamiento sin inoculación bacteriana (Control) en *B. decumbens*.

Por otro lado, hubo un incremento en la longitud del tallo mediada en la aplicación conjunta de Cd y la rizobacteria, especialmente hubo mayor aumento a la concentración de 100mg y seguidamente en la dosis de 500mg de Cd inoculados con la rizobacteria *Bacillus subtilis* (Tabla 3).

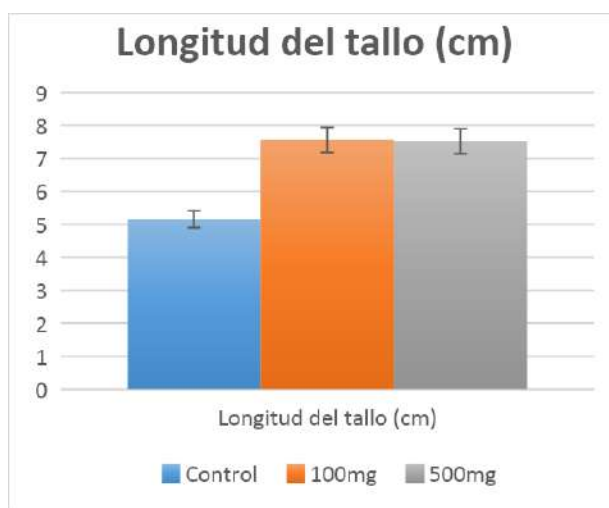
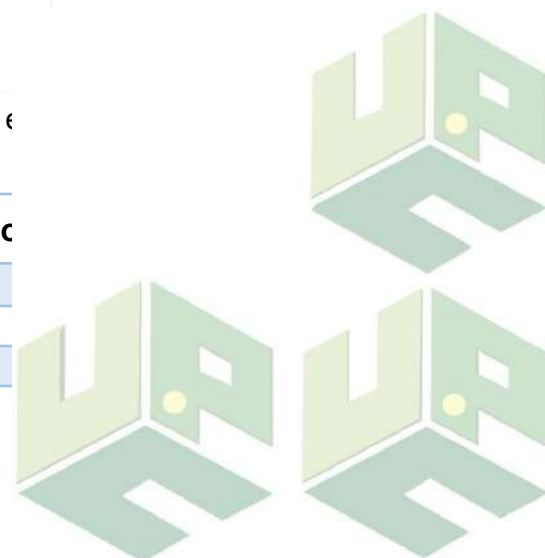


Fig.2. Longitud del tallo (cm) de los tratamientos expuestos a Cd e

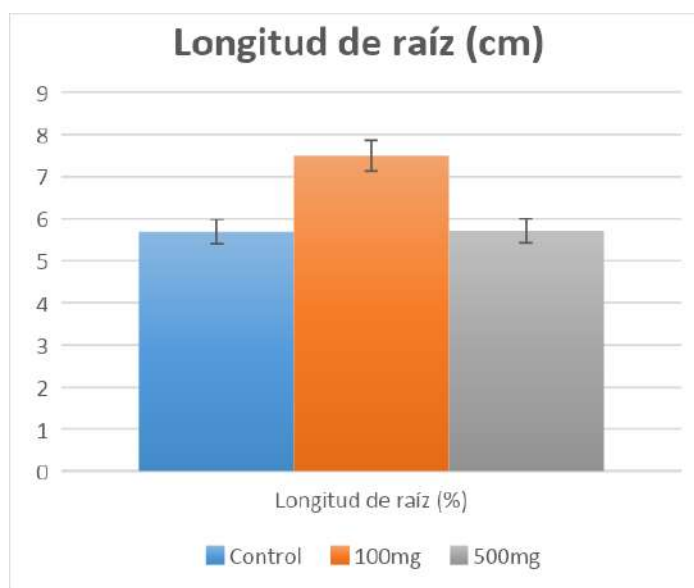
Réplicas	Control	Tratamiento 100mg
R1	6,20	6,50
R2	8,60	9,50



R3	6,00	7,10	3,40
R4	1,80	8,30	8,20
R5	5,90	6,10	6,40
<b>Promedio</b>	5,7 <sup>a</sup>	7,5 <sup>a</sup>	5,72 <sup>a</sup>

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos hallados a partir de los valores de la longitud de la raíz máxima de *B. decumbens* a 15 días.

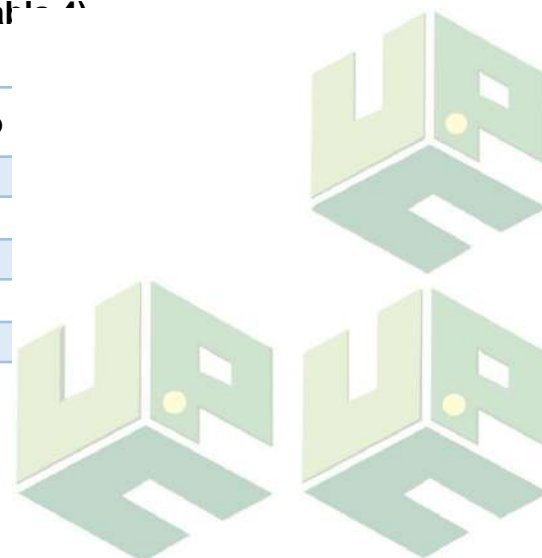
Los resultados de la **Tabla 4.** registraron que los tratamientos aplicados con la bacteria *Bacillus subtilis* y el metal tóxico de Cd en las concentraciones de 100mg y 500mg no mostraron diferencias significativas para la longitud de la raíz de *B. decumbens*, en comparación con el control sin inocular, según la Prueba de Tukey < 0,05.



**Fig.3.** Longitud de la raíz (cm) de los tratamientos expuestos a Cd en *B. decumbens*.

Hubo incremento en la longitud de raíces del pasto en la concentración de 100mg de Cd con respecto al control, simultáneamente aparece una disminución en los valores promedio con la concentración de 500mg de Cd (Tabla 4).

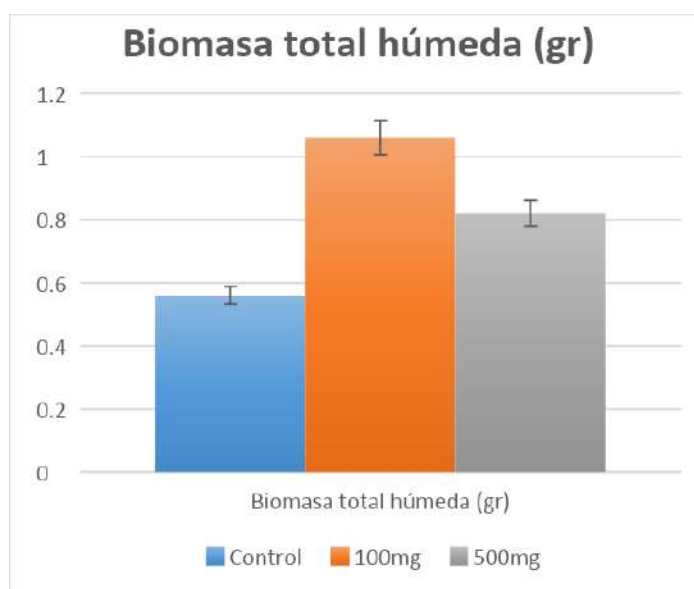
Réplicas	Control	Tratamiento 100mg
R1	1,00	0,30
R2	0,80	1,70
R3	0,40	0,70
R4	0,10	0,90



R5	0,50	1,70	0,60
<b>Promedio</b>	0,56a	1,06 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos hallados a partir de los valores de la biomasa total húmeda de *B. decumbens* a 15 días.

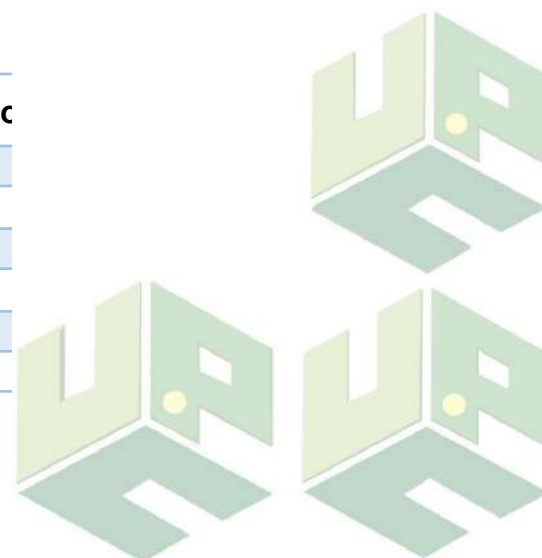
Para el caso de los resultados de la biomasa total húmeda **Tabla 5**, se pudo observar que ninguno de los tratamientos presentó diferencias significativas con respecto al control (sin inocular), según la Prueba de Tukey  $< 0,05$ . Sin embargo, los valores promedio del tratamiento con 100mg (1,06a) y el tratamiento con 500mg (0,82a) estuvieron por encima del control (0,56a).



**Fig.4.** Biomasa total húmeda (gr) de los tratamientos expuestos a Cd en *B. decumbens*.

Hubo incremento en la biomasa húmeda del pasto a partir de la concentración de 100mg y a la vez se redujo al aumentar la concentración a 500mg de Cd (**Tabla 5**). Hubo un incremento del doble en el tratamiento de 100mg de Cd con respecto al control sin inoculación bacteriana (**Tabla 6**).

Réplicas	Control	Tratamiento 100mg
R1	5,00	3,00
R2	4,00	10,50
R3	3,00	6,00
R4	2,00	8,50
R5	7,00	12,50



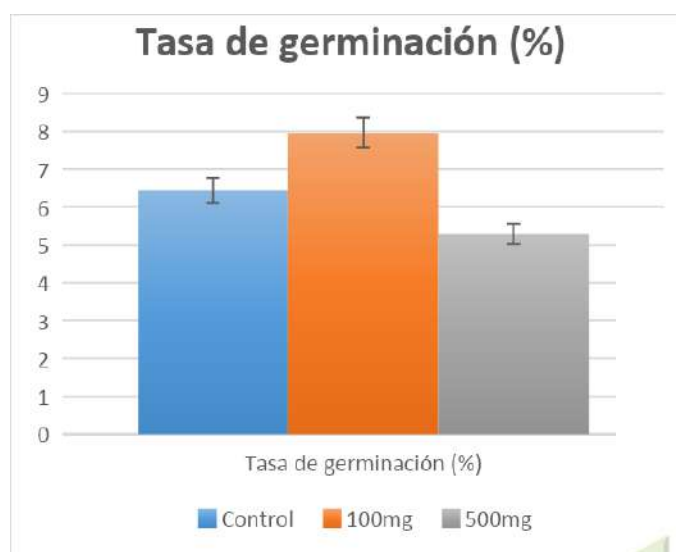
Promedio	4,2a	8,1 <sup>a</sup>	5,3 <sup>a</sup>
----------	------	------------------	------------------

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos hallados a partir de los valores de la tasa de germinación de semillas de *B. decumbens* a 15 días.

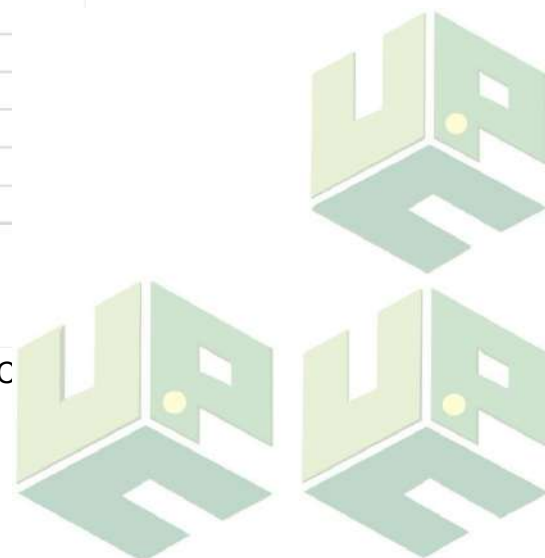
Para los resultados de la tasa de germinación mostrados en la Tabla 6. se puede observar que no hubo diferencias significativas en ninguno de los tratamientos con respecto al control (sin inocular), según la Prueba de Tukey  $< 0,05$ . Sin embargo, la tasa de germinación del tratamiento con 100mg fue la más alta con (8,1a) y el tratamiento con 500mg (5,3a) estuvieron por encima del control (4,2a).



**Fig.5.** Bioensayo de *Brachiaria decumbens* en 3 tratamientos, control sin inoculación y con aplicación de *Bacillus subtilis* sobre dosis de 100mg y 500mg de Cd.



**Fig.6.** Tasa de germinación (%) de los tratamientos expuestos a Cd





**Fig. 7.** Tratamiento con inoculación bacteriana (*Bacillus subtilis*) en *B. decumbens* expuesto a 500mg de Cd.

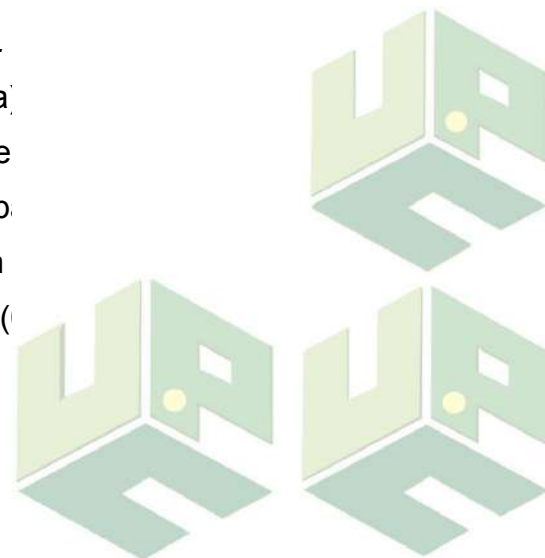
Los resultados anteriores demuestran que la adsorción de concentraciones de 100 – 500mg de Cd incrementan el crecimiento vegetal del pasto y al ser aplicados junto a la rizobacteria mejora la tolerancia al estrés, permitiendo la asimilación del Cd en los tejidos que podrían facilitar el desarrollo de mecanismos como la fitoextracción y fitoacumulación de metales pesados.

**Bioensayo con la PGPR *Bacillus subtilis* y Pb sobre *Brachiaria decumbens*.**



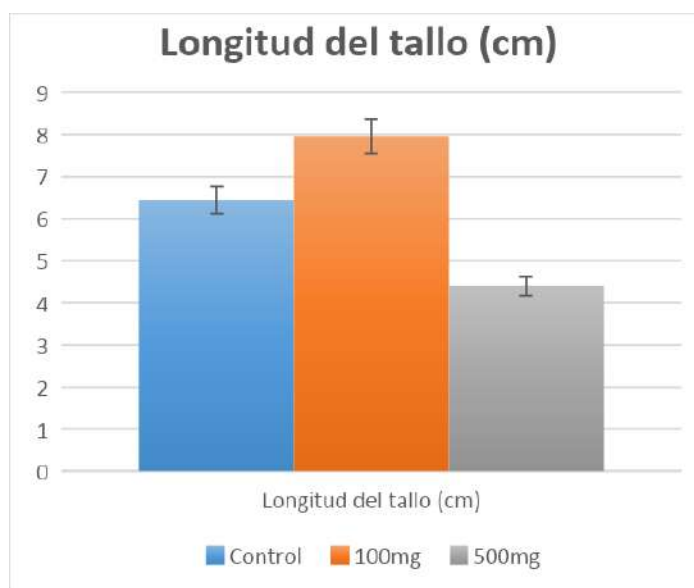
**Fig.8.** Bioensayo en tratamientos de *Brachiaria decumbens* en 3 tratamientos, control sin inoculación y con aplicación de *Bacillus subtilis* sobre dosis de 100mg y 500mg de Pb.

En los resultados pertenecientes a la longitud del tallo de *B.* a Pb en la Tabla 7. se observó un valor promedio de (4,4a; 500mg, el cual no presentó diferencias significativas de respecto al control sin inoculación (6,44ab), según la Prueba otro lado, el tratamiento con 100mg fue el más alto con un seguidamente aparece el control con un valor promedio de (



<b>Tabla 7. Longitud del tallo del pasto en ensayo con Plomo (Pb)</b>			
<b>Réplicas</b>	<b>Control</b>	<b>Tratamiento 100mg</b>	<b>Tratamiento 500mg</b>
<b>R1</b>	6,90	7,40	1,30
<b>R2</b>	5,10	10,20	5,90
<b>R3</b>	7,10	6,70	3,40
<b>R4</b>	4,70	5,40	6,40
<b>R5</b>	8,40	10,10	5,00
<b>Promedio</b>	6,44ab	7,96b	4,4 <sup>a</sup>

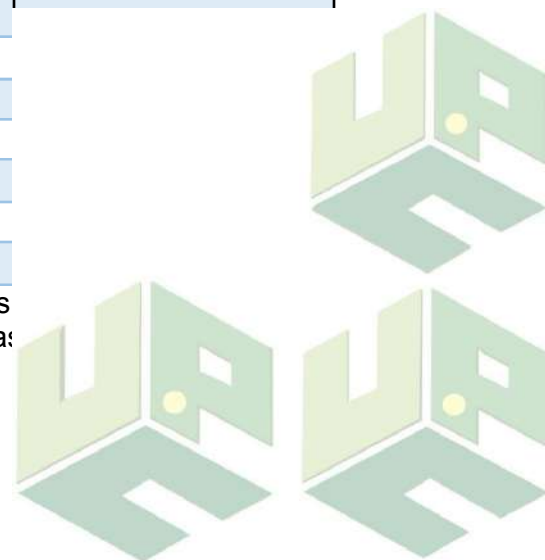
\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos hallados a partir de los valores de la longitud del tallo máximo de *B. decumbens* a 15 días.



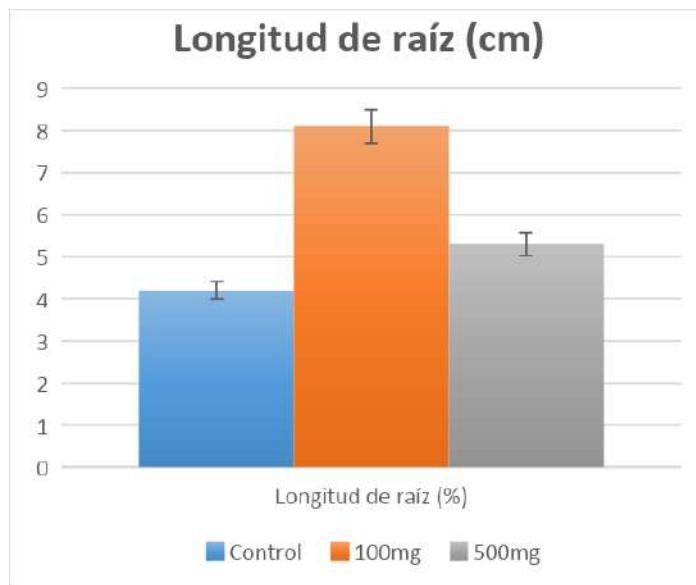
**Fig.9.** Longitud del tallo (cm) de los tratamientos expuestos a Pb en *B. decumbens*.

<b>Tabla 8. Longitud de la raíz del pasto en ensayo con Plomo (Pb)</b>		
<b>Réplicas</b>	<b>Control</b>	<b>Tratamiento 100mg</b>
<b>R1</b>	6,10	3,10
<b>R2</b>	4,70	6,80
<b>R3</b>	5,00	10,10
<b>R4</b>	4,50	10,20
<b>R5</b>	4,00	6,20
<b>Promedio</b>	4,86ab	7,28b

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos valores de la longitud de la raíz máxima de *B. decumbens* a 15 días



Los valores pertenecientes a la longitud de la raíz del pasto expuesto a Pb (**Tabla 8**) presentaron diferencias significativas dentro del tratamiento aplicado con una dosis de 100mg con valor promedio de (7,28b), seguido se ubica el control con un promedio de (4,86ab) y posteriormente el tratamiento aplicado con una dosis de 500mg.

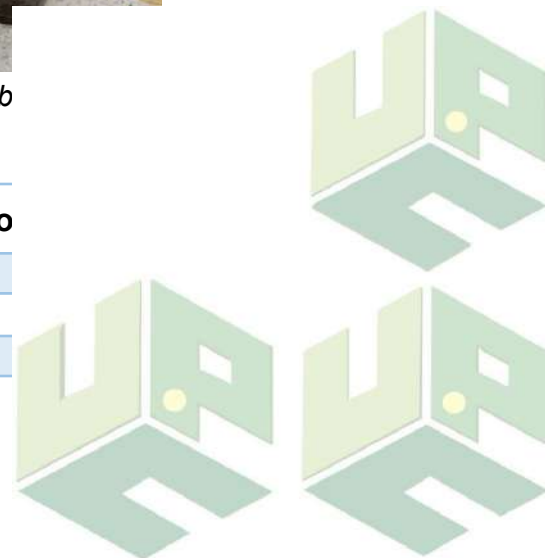


**Fig.10.** Longitud de la raíz (cm) de los tratamientos expuestos a Pb en *B. decumbens*.



**Fig.11.** Tratamiento con inoculación bacteriana (*Bacillus sub* expuesto a 100mg de Pb.

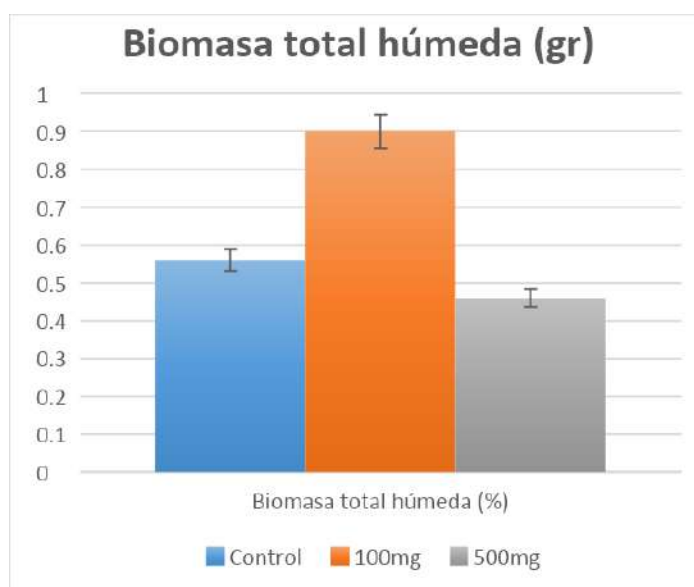
Réplicas	Control	Tratamiento 100mg
R1	0,20	0,70
R2	0,20	0,80



<b>R3</b>	1,40	1,70	0,50
<b>R4</b>	0,50	0,50	0,60
<b>R5</b>	0,50	0,80	0,40
<b>Promedio</b>	0,56 <sup>a</sup>	0,9 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos hallados a partir de los valores de la biomasa total húmeda de *B. decumbes* a 15 días.

Para los resultados hallados de la biomasa total húmeda del pasto expuesto a Pb en la **Tabla 9.**, el cual no presentó diferencias significativas en ninguno de los tratamientos con respecto al control, según la Prueba de Tukey < 0,05. Por otro lado, el tratamiento con 100mg fue el más alto con un promedio de (0,9a), seguidamente aparece el control con un valor promedio de (0,56a) y finalmente aparece el tratamiento con 500mg con un valor promedio de (0,46a)



**Fig.12.** Biomasa total húmeda (gr) de los tratamientos expuestos a Pb en *B. decumbes*.

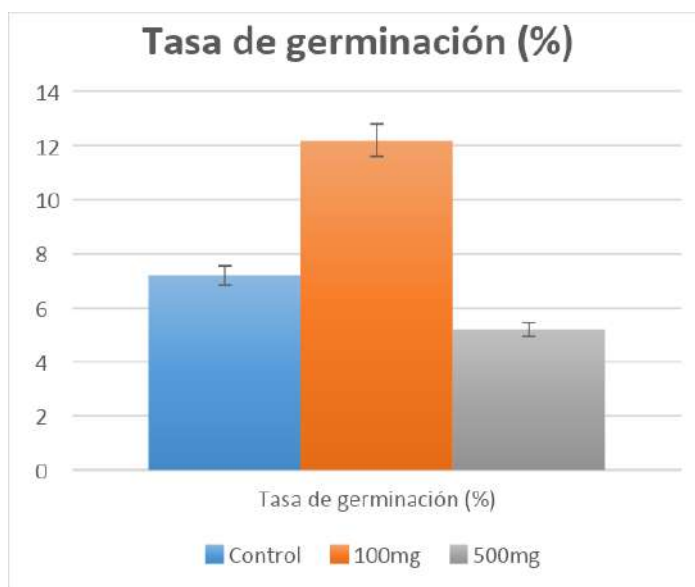
<b>Tabla 10. Tasa de germinación (%) del pasto en ensayo con Plomo (Pb)</b>			
<b>Réplicas</b>	<b>Control</b>	<b>Tratamiento con 100mg</b>	<b>Tratamiento con 500mg</b>
<b>R1</b>	3,00	5,00	1,00
<b>R2</b>	3,00	6,00	
<b>R3</b>	6,00	8,50	
<b>R4</b>	3,00	4,50	
<b>R5</b>	3,00	6,50	
<b>Promedio</b>	7,2 <sup>a</sup>	12,2 <sup>b</sup>	

\*Visualización de las medias de los subconjuntos homogéneos valores de la tasa de germinación de semillas de *B. decumbes* a

Para los resultados hallados de la tasa de germinación del p la **Tabla 8.**, el tratamiento con 100mg fue el más alto con u



posteriormente se observa que el tratamiento con 500mg con un valor promedio de (5,2a), no presentó diferencias significativas según la Prueba de Tukey  $< 0,05$ .



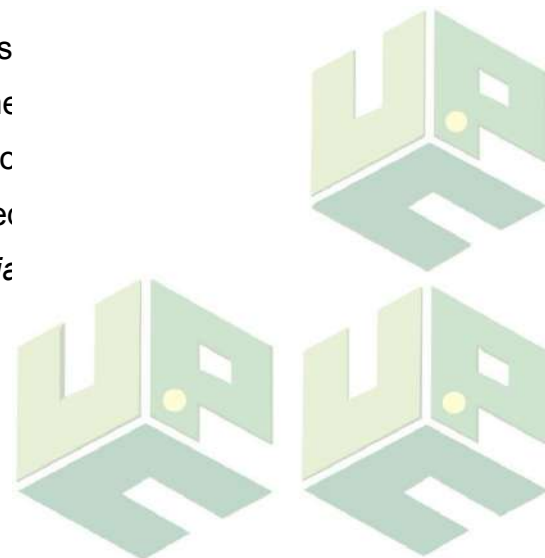
**Fig.13.** Tasa de germinación (%) de los tratamientos expuestos a Pb en *B. decumbes*.

Para el caso de los resultados de la biomasa total húmeda **Tabla 5**, se pudo observar que ninguno de los tratamientos presentó diferencias significativas con respecto al control (sin inocular), según la Prueba de Tukey  $< 0,05$ . Sin embargo, los valores promedio del tratamiento con 100mg (1,06a) y el tratamiento con 500mg (0, 82a) estuvieron por encima del control (0, 56a).

A partir de los resultados se puede inferir que la contaminación por Plomo (Pb), causó una reducción significativa en la longitud del tallo (**Tabla 7**), longitud de raíces (**Tabla 8**), biomasa húmeda (**Tabla 9**) y en la tasa germinativa del pasto (**Tabla 10**) a partir de la dosis de 500mg, demostrando la alta toxicidad del Plomo sobre el pasto *Brachiaria decumbens* a altas concentraciones.

Con base a los valores determinados en los 2 bioensayos Pb, podemos afirmar que la biomasa total húmeda incrementa bacteriana a 100mg en conjunto con el metal pesado incrementa en los tratamientos aplicados con Cd, esto puede ser debido a la asimilación del Cd dentro de los tejidos vegetales de *Brachiaria decumbens*.

## DISCUSIONES



En este estudio se pudo evaluar la eficacia de la bacteria *Bacillus subtilis* como rizobacteria promotora de crecimiento vegetal (PGPR) sobre el crecimiento de *Brachiaria decumbens* en suelos contaminados con Cd y Pb.

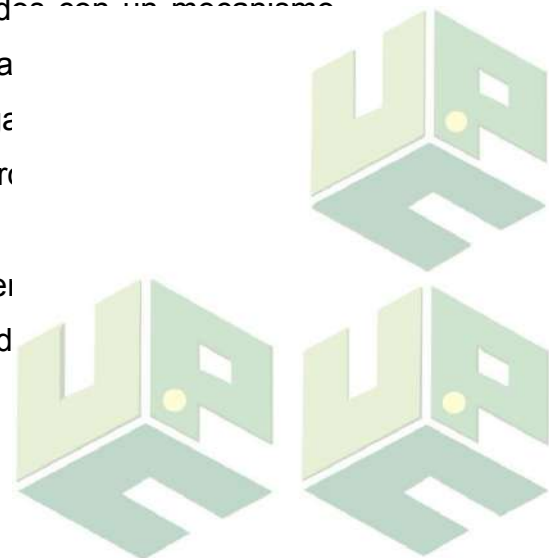
Los resultados de este estudio demostraron que la inoculación de *B. subtilis* promovió significativamente el crecimiento de *B. decumbens* en suelos contaminados con los metales pesados Cd y Pb. En comparación con las plantas control, las plantas tratadas con *B. subtilis* mostraron un aumento en la altura de las plantas, la biomasa húmeda y la germinación de semillas.

Estos resultados están respaldados por otros estudios que han demostrado que la inoculación de bacterias PGPR pueden mejorar la tolerancia de las plantas a los metales pesados y reducir su acumulación en los tejidos de las plantas (Khan, A., Gupta, A., Singh, P., Mishra, A. K., Ranjan, R. K., & Srivastava, A., 2020). Además, se ha informado que la interacción de las bacterias PGPR con las raíces de las plantas también puede mejorar la absorción de nutrientes y mejorar la resistencia a enfermedades (Bhattacharyya, P. & Jha, D. K., 2012).

Según Akhtar, M. J., Ullah, S., Ahmad, I., Rauf, A., Nadeem, S. M., Khan, M. Y., Hussain, S., & Bulgariu, L. (2018), la inoculación de la rizobacteria *Bacillus* posee la capacidad para ayudar a la planta a aliviar el estrés por metales pesados a través de la producción de IAA (ácido indolacético) que indirectamente promueve elongación de la raíz, lo cual favorece la adsorción de minerales y, por ende, la biomasa total de la planta.

Sin embargo, la respuesta fisiológica de la planta frente a la exposición del xenobiótico no solamente es tolerar la concentración de los contaminantes, sino que en el caso de una especie de pastura como *Brachiaria decumbens* le permite asimilar con suma facilidad sustancias y/o metales pesados con un mecanismo llamado fitoextracción, de igual forma al ser asimilados y a los tejidos vegetales (fitoacumulación), estos pueden llegar por los compuestos enzimáticos de las plantas y sus microorganismos por el mecanismo de fitovolatilización

Aunque el Cd es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas, un exceso en el suelo puede llegar a inhibir el crecimiento de



investigación, se estudió la efectividad de una rizobacteria sobre la presencia de Cd y Pb en pasto mientras se usaba una cepa de PGPR en suelos con niveles variables de Cd y Pb. Los resultados revelaron que la contaminación por Pb y Cd a niveles altos de 500mg redujo significativamente el crecimiento del pasto.

## 5. CONCLUSIONES

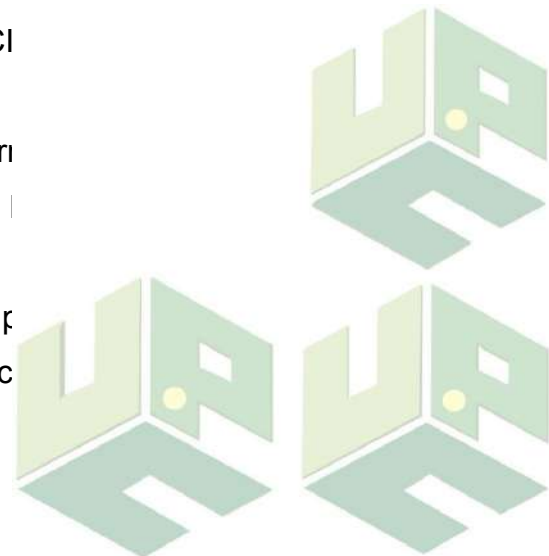
Los resultados muestran efectos supresores del Pb en el crecimiento del pasto en concentraciones superiores a 100mg, sin embargo, en el tratamiento de 100mg la inoculación bacteriana indujo la germinación de las semillas y la longitud de las raíces, lo que podría ayudar a la planta a tolerar el estrés mediado por el Pb.

La inoculación de *B. subtilis* como PGPR puede ser una estrategia efectiva para promover el crecimiento *B. decumbes* y la desintoxicación de suelos contaminados con metales pesados como el Cd y Pb. Estos resultados tienen implicaciones importantes para la restauración de suelos contaminados y la producción agrícola sostenible.

Este estudio nos permite proporcionar información valiosa sobre el uso potencial de *Bacillus subtilis* como una herramienta efectiva para la desintoxicación de suelos contaminados y la mejora del crecimiento del pasto *Brachiaria decumbes* en ambientes degradados por metales pesados.

## 6. RECOMENDACIONES

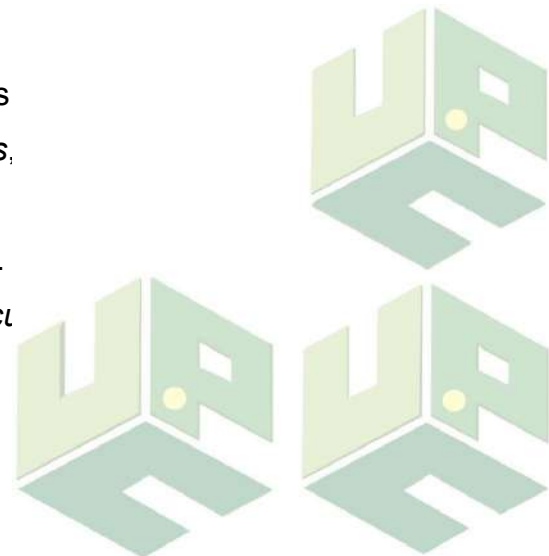
- Aplicar ensayos con mayor número de tratamientos donde usen mínimo 5 niveles de concentración de los metales pesados adicionados para determinar la adaptación en tiempo vs la concentración.
- Evaluar parámetros fisicoquímicos del suelo (C, humedad, textura, pH, actividad microbiana).
- Ampliar el número de variables a evaluar para determinar la promoción del crecimiento vegetal mediado por rizobacteria.
- Identificar los mecanismos de acción empleados por el rizo bacteria estudiado para hallar la correlación costo – beneficio.



posibilidad de este método como una opción para restaurar suelos contaminados por metales pesados.

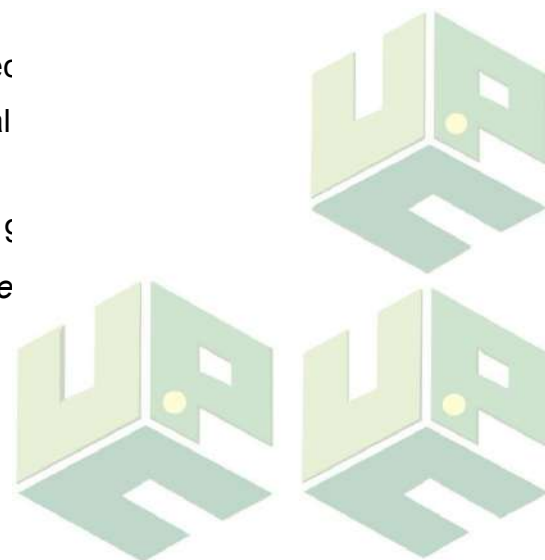
## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta Olaya, G. E., & Ramírez Pisco, R. (2010). Evaluación de los cambios en algunas propiedades físicas y químicas de un ultisol por efecto del *Bacillus subtilis*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2), 203-213.
- Agencia nacional de minería. (2022). ANM otorga 15 nuevos títulos mineros para la exploración en el César. Disponible en: <https://www.anm.gov.co/?q=anm-otorga-15-nuevos-titulos-mineros-para-la-exploracion-en-el-cesar>
- Arrieta Aquise, L. K. (2019). Biosorción de metales pesados por hongos filamentosos, aislados de cuerpos de agua altoandinos contaminados con relaves mineros de la sierra central del Perú.
- Ávila Pedraza, D. F., & Ponguta Ricaurte, D. V. (2021). Evaluación del potencial de *Brachiaria decumbens* y *Panicum maximum* como especies vegetales promisorias para el proceso de fitorremediación en asocio con enmienda orgánica, de suelos contaminados por metales pesados: plomo (Pb), cromo (Cr) y cadmio (Cd). Caso estudio finca Candamí, municipio de Nimaima, Cundinamarca.
- Akhtar, M. J., Ullah, S., Ahmad, I., Rauf, A., Nadeem, S. M., Khan, M. Y., Hussain, S., & Bulgariu, L. (2018). Nickel phytoextraction through bacterial inoculation in *Raphanus sativus*. *Chemosphere*, 190, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.136>
- Bakshe, P., & Jugade, R. (2023). Phytostabilization and rhizofiltration of toxic heavy metals by heavy metal accumulator management of contaminated industrial sites review. *Journal of Hazardous Materials Advances*, <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100293>
- Bashir, S., Javed, S., Al-Anazi, K. M., Farah, M. Bioremediation of Cadmium Toxicity in Wheat (*Triticu*



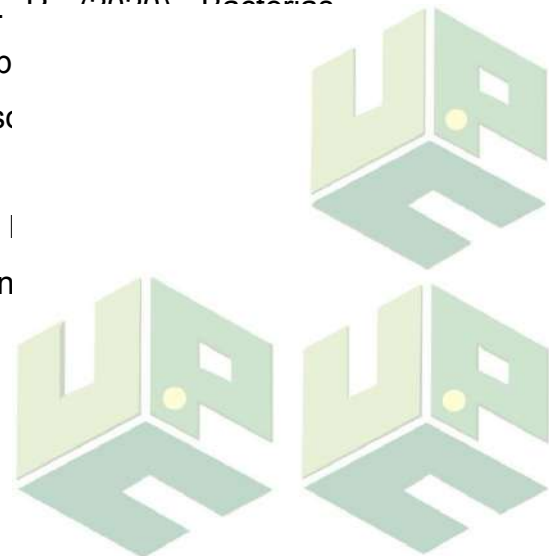
Primed with L-Proline, *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(19), 12683.

- Bautista-Cruz, A., & Martínez-Gallegos, V. (2020). Promoción del crecimiento de *Agave potatorum* Zucc. por bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. *Terra Latinoamericana*, 38(3), 555-567.
- Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K. (2012). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Emergence in Agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327-1350.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Beltrán Duque, M. A. (2020). Estudio de *Pseudomonas extremaustralis* CMPUJ U515, *Bacillus Subtilis* ATCC 6633 y *Bacillus Thuringiensis* Kurstaki HD-1 en relación a estrés: Xenobióticos y Glifosato.
- Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172-197.
- Benjumea Muñoz, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones.
- Borges, K. S. C., D'Avila, R. C., Campos, M. L., Coelho, C. M. M., Miquelluti, D. J., & Galvan, N. D. S. (2016). Germination and initial development of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens* on exposure to cadmium, lead and copper. *Journal of Seed Science*, 38, 335-343.
- Cabrera, E. V. R., Bonilla, B., & Aguilar, M. (2018). Interacciones entre plantas y bacterias promotoras de crecimiento vegetal. *Revista citecsa*, 10(15), 23.
- Camelo, M., Vera, S. P., & Bonilla, R. R. (2011). Mecanismos de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Agropecuaria*, 12(2), 159-166.
- Campo Tatis, N y Simanca Martínez, K. (2019). Efecto de diferentes concentraciones de cadmio, plomo, zinc y cromo e



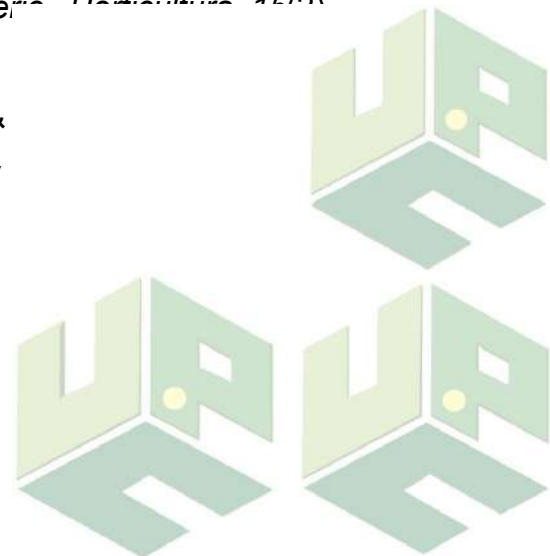
*departamento de la Guajira-Colombia y riesgo de exposición en humanos.* Universidad de la Costa.

- Caro, L. J., & Cortés, P. T. (2020). Estado del arte de los efectos de plaguicidas de uso agrícola para la salud y el ambiente en Colombia (2007-2019).
- Chavez Troibas, J. G. (2022). Biorremediación mediante microorganismos modificados genéticamente para la degradación de contaminantes ambientales: Revisión sistemática.
- Cordero-Ramírez, J. D., Figueroa-López, A. M., de León, F. I. D., del Carmen Martínez-Valenzuela, M., Urías-Romero, C., Mora-Romero, G. A., & Mendoza, I. E. M. (2016). Microorganismos con potencial antagónico de fitopatógenos y promotores de crecimiento vegetal: una alternativa para su uso en la agricultura sinaloense. *Sustentabilidad, teoría, perspectivas y realidades*.
- Costa, A. C. A. D., & Duta, F. P. (2001). Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 1-5.
- De Clerck, C., & Borrero-Echeverry, F. (2018). Los volátiles microbianos y su potencial en el control biológico de fitopatógenos e insectos.
- Departamento del Cesar. (2020). Plan departamental de extensión agropecuaria.
- Diaz Jalca, M. L., & Céspedes Silva, J. D. (2021). Hongos con actividad ACC desaminasa asociados a la rizósfera de *Prosopis limensis Benth.* y su potencial como promotores de crecimiento vegetal.
- Diaz, S. P., Molina, D. C. M., & Tapias, D. F. P. (2020). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Filogenia, microb
- Gil, C. L. (2021). Contaminación de suelos por el uso TecnoHumanismo, 1(5), 59-75.
- Gomes, M. P., Marques, T. C. L. L. D. S., Nogueira, I. M. D., & Soares, Â. M. (2011). Ecophysiological an

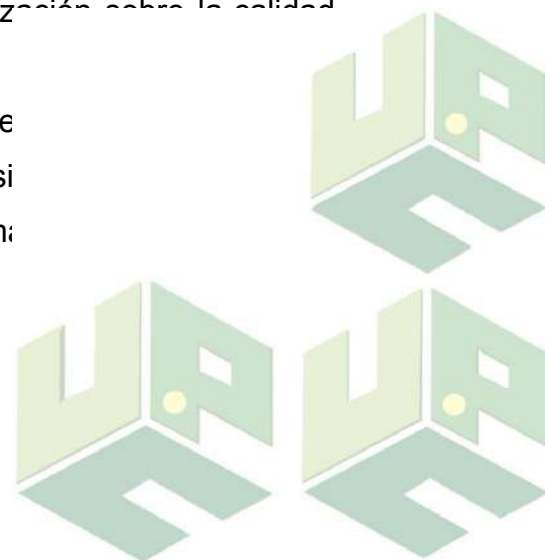


due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola*, 68, 566-573.

- Khan, A., Gupta, A., Singh, P., Mishra, A. K., Ranjan, R. K., & Srivastava, A. (2020). Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis*. *International Microbiology*, 23(2), 277-286.
- Low, S. G. (2015). Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in grazing ruminants. *Agriculture*, 5(4), 971-990.
- Martínez, E., Fuentes, J. P., & Acevedo, E. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8(1), 68-96.
- Mercado Chinchay, S., & Morales Palacios, G. L. (2021). Revisión bibliográfica del uso de plantas fitorremediadoras en la recuperación de suelos contaminados con metales pesados.
- Ministerio de Ambiente, vivienda y desarrollo territorial. (2007). Consolidación del Inventario de Plaguicidas.
- Morales Yepes, Wilmar & Carmona López, Inés. (2007). Estudio de algunos elementos traza en la cuenca Cesar-Ranchería, Colombia. *Boletín de Ciencias de la Tierra*, (20), 75-88.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. (2022). Evaluación mundial de la contaminación del suelo – Resumen para los formuladores de políticas. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb4827es>
- Ortiz-Cano, H. G., Trejo-Calzada, R., Valdez-Cepeda, R. D., Arreola-Ávila, J. G., Flores-Hernández, A., & López-Ariza, B. (2009). Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 15(2), 161-168.
- Peláez-Peláez, M. J., Bustamante Cano, J. J., & (2016). Presencia de cadmio y plomo en suelos y tejidos vegetales en especies de *Brachiaria* en colombiano. *Luna Azul*, (43), 82-101.



- Pérez, F. J. M., Valderrama, J. F. N., & Baena, J. A. P. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y ambiente*, 15(3), 27-37.
- Puetate Mejía, L. M. (2019). Alternativas de fertilización para el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) con el empleo de micorrizas, microorganismos solubilizadores de fósforo y biol de producción local en El Ejido, Montúfar, Carchi (Doctoral dissertation, Universidad Politécnica Estatal del Carchi).
- Rodríguez, Cristian. (2013). Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad santa clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higuera (*Ricinus communis*). Tesis de especialización: Universidad católica de Manizales.
- Sandler, R. V. (2019). Indicadores de sustentabilidad del suelo basados en la estructura y funcionamiento de la fauna edáfica.
- Sandoval Polo, B. J. (2022). Eficiencia de la vetiveria (*Chrysopogon zizanioides*) en la rizofiltración de suelos agrícolas contaminados con metales, en el caserío de Plazapampa–distrito Salpo–provincia Otuzco–La Libertad, 2021.
- Santoyo, G., Hernández Flores, B., Hernández Salmerón, J., Rojas Solís, D., Contreras Pérez, M., Loeza Lara, P. D., & Orozco Mosqueda, M. D. C. (2020). Detección de los genes *phlD* y *hcnC* en bacterias antagonistas productoras de sideróforos asociadas a *Rubus fruticosus* L. *Nova scientia*, 12(24), 0-0.
- Serri, D. L., Boccolini, M., Oberto, R., Chavarría, D., Bustos, N., Vettorello, C., & Vargas Gil, S. (2018). Efecto de la agriculturización sobre la calidad biológica del suelo. *Ciencia del suelo*, 36(2), 92-104.
- Simón Solá, M. Z. (2019). Evaluación de la potencia microorganismo-vegetal para la biorremediación de suelos.
- Trinidad-Santos, A. (2016). Importancia de la materia orgánica del suelo. *Agro Productividad*, 9(8).

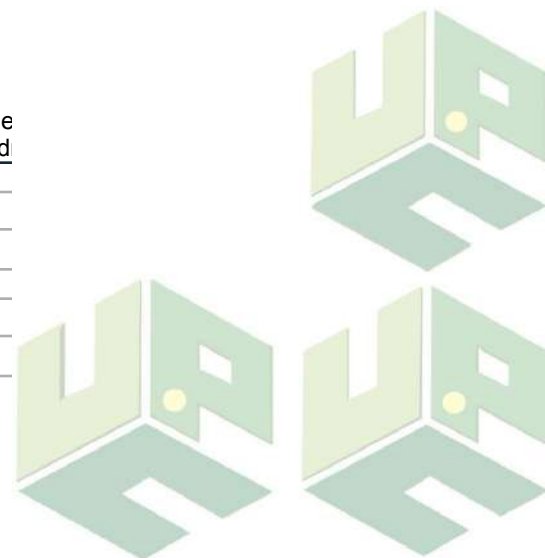


- Ullah, S., Ali, R., Mahmood, S., Atif Riaz, M., & Akhtar, K. (2020). Differential growth and metal accumulation response of *Brachiaria mutica* and *Leptochloa fusca* on cadmium and lead contaminated soil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 29(8), 844-859.
- Valero Valero, N. O., Beleño Carrillo, J., & Mancilla, S. (2011). Biotransformación de carbón de bajo rango por bacterias aisladas de microhábitats influenciados por residuos de carbón. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13(1), 58-65.
- Valle, R. M. (2021). Efecto de los reguladores de crecimiento en la multiplicación *in vitro* de plátano (*Musa× paradisiaca* L.): Revisión de Literatura.
- Zhang, J., Guo, Y., Fan, S., Wang, S., Shi, Q., Zhang, M., & Zhang, J. (2021). Detoxification of heavy metals attributed to biological and non-biological complexes in soils around copper producing areas throughout China. *Journal of Cleaner Production*, 292(125999), 125999. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125999>
- Zhao, Y., Deng, Q., Lin, Q., Zeng, C., & Zhong, C. (2020). Cadmium source identification in soils and high-risk regions predicted by geographical detector method. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 263(Pt A), 114338. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114338>

## 8. ANEXOS

- Análisis estadístico del Bioensayo con la PGPR *Bacillus subtilis* y Cd sobre *Brachiaria decumbens*.

		ANOVA		
		Suma de cuadrados	gl	Me cuad
Longitud del tallo	Entre grupos	18,885	2	
	Dentro de grupos	19,372	12	
	Total	38,257	14	
Longitud de la raíz	Entre grupos	10,681	2	
	Dentro de grupos	45,088	12	
	Total	55,769	14	



Biomasa total húmeda	Entre grupos	,625	2	,313	1,494	,263
	Dentro de grupos	2,512	12	,209		
	Total	3,137	14			
Semillas	Entre grupos	161,733	2	80,867	2,614	,114
	Dentro de grupos	371,200	12	30,933		
	Total	532,933	14			
Tasa de germinación	Entre grupos	40,433	2	20,217	2,614	,114
	Dentro de grupos	92,800	12	7,733		
	Total	133,233	14			

### Longitud del tallo (cm)

	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	1,00	5	5,1600	
	3,00	5		7,5200
	2,00	5		7,5600
	Sig.		1,000	,999
Duncan <sup>a</sup>	1,00	5	5,1600	
	3,00	5		7,5200
	2,00	5		7,5600
	Sig.		1,000	,961

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Longitud de la raíz (cm)

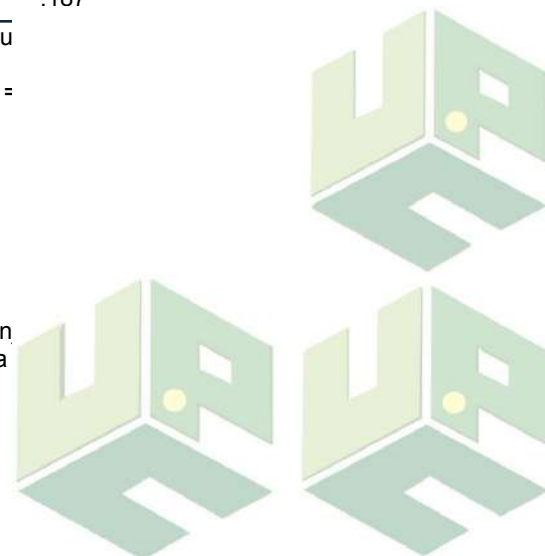
	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	
HSD Tukey <sup>a</sup>	1,00	5	5,7000	
	3,00	5	5,7200	
	2,00	5	7,5000	
	Sig.			,340
Duncan <sup>a</sup>	1,00	5	5,7000	
	3,00	5	5,7200	
	2,00	5	7,5000	
	Sig.			.187

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Biomasa total húmeda (gr)

	Tratamientos	N	Subcon
			para alfa



		1	
HSD Tukey <sup>a</sup>	1,00	5	,5600
	3,00	5	,8200
	2,00	5	1,0600
	Sig.		,235
Duncan <sup>a</sup>	1,00	5	,5600
	3,00	5	,8200
	2,00	5	1,0600
	Sig.		,125

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Tasa de germinación (%)

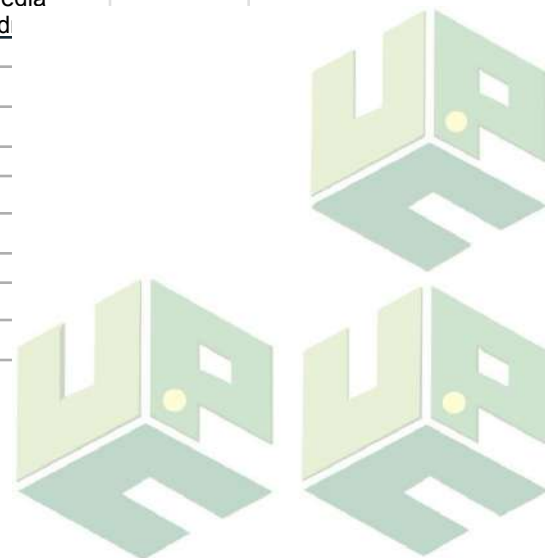
		Subconjunto para alfa = 0.05	
Tratamientos		N	1
HSD Tukey <sup>a</sup>	1,00	5	4,2000
	3,00	5	5,3000
	2,00	5	8,1000
	Sig.		,108
Duncan <sup>a</sup>	1,00	5	4,2000
	3,00	5	5,3000
	2,00	5	8,1000
	Sig.		,056

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

- Análisis estadístico del Bioensayo con la PGPR *Bacillus subtilis* y Pb sobre *Brachiaria decumbens*.

		ANOVA		Media
		Suma de cuadrados	gl	cuad
Longitud del tallo	Entre grupos	31,909	2	
	Dentro de grupos	44,584	12	
	Total	76,493	14	
Longitud de la raíz	Entre grupos	46,057	2	
	Dentro de grupos	40,640	12	
	Total	86,697	14	
Biomasa total húmeda	Entre grupos	,532	2	
	Dentro de grupos	2,044	12	
	Total	2,576	14	



Tasa de germinación	Entre grupos	32,500	2	16,250	8,628	,005
	Dentro de grupos	22,600	12	1,883		
	Total	55,100	14			

### Longitud del tallo (cm)

	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	3,00	5	4,4000	
	1,00	5	6,4400	6,4400
	2,00	5		7,9600
	Sig.		,255	,450
Duncan <sup>a</sup>	3,00	5	4,4000	
	1,00	5	6,4400	6,4400
	2,00	5		7,9600
	Sig.		,120	,236

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Longitud de la raíz (cm)

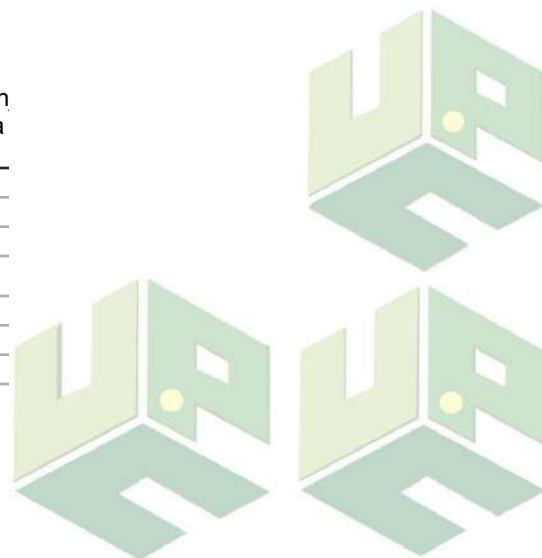
	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	3,00	5	3,0000	
	1,00	5	4,8600	4,8600
	2,00	5		7,2800
	Sig.		,284	,136
Duncan <sup>a</sup>	3,00	5	3,0000	
	1,00	5	4,8600	4,8600
	2,00	5		7,2800
	Sig.		,136	,060

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Biomasa total húmeda (gr)

	Tratamientos	N	Subcon
			para alfa 1
HSD Tukey <sup>a</sup>	3,00	5	
	1,00	5	
	2,00	5	
	Sig.		
Duncan <sup>a</sup>	3,00	5	
	1,00	5	
	2,00	5	



Sig.		,134
------	--	------

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### Tasa de germinación (%)

	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD Tukey <sup>a</sup>	3,00	5	2,6000	
	1,00	5	3,6000	
	2,00	5		6,1000
	Sig.		,502	1,000
Duncan <sup>a</sup>	3,00	5	2,6000	
	1,00	5	3,6000	
	2,00	5		6,1000
	Sig.		,272	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

