



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ingeniería Geológica, Minera,
Metalúrgica y Geográfica
Unidad de Posgrado

**Desarrollo de un prototipo de sistema microbiano para
biorremediación de suelos agrícolas contaminados con
cadmio**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias

Ambientales

AUTOR

Mario ALCARRAZ CURI

ASESOR

Dr. Carlos Francisco CABRERA CARRANZA

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Alcarraz, M. (2025). *Desarrollo de un prototipo de sistema microbiano para biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Mario Alcarraz Curi
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	31159746
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5262-2969
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Carlos Francisco Cabrera Carranza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	17402784
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5821-5886
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Jorge Leonardo Jave Nakayo
Tipo de documento	DNI
	01066653
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Walter Javier Díaz Cartagena
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25726173
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Oscar Rafael Tinoco Gómez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08606920
Datos de investigación	

Línea de investigación	Biorremediación y Bioconversión
Grupo de investigación	INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS AGROINDUSTRIALES Y AMBIENTALES
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Laboratorio: Biotecnología Ambiental y Bioprocesos Industriales. Edificio: Pabellón de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado Calle Germán Amezaga 375 Coordenadas aproximadas: -12.05931° , -77.08197°
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2022 -2024
URL de disciplinas OCDE	Ingeniería ambiental, Geociencias: http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.07.01 Biotecnología ambiental: https://www.oecd.org/science/inno/38235147



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

SUSTENTACIÓN PÚBLICA

En la Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima, a los veintiséis días del mes de noviembre del año dos mil veinticinco, siendo las diez horas, se reúnen los suscritos Miembros del Jurado Examinador de Tesis, nombrado mediante Dictamen N° 000371-2025-UPG-VDIP-FIGMMG/UNMSM del 20 de noviembre del 2025, con la finalidad de evaluar la sustentación oral de la siguiente tesis:

TÍTULO

«DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE SISTEMA MICROBIANO PARA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS CONTAMINADOS CON CADMIO»

Presentado por el Mg. **MARIO ALCARRAZ CURI**, para optar el **GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR** en **CIENCIAS AMBIENTALES**.

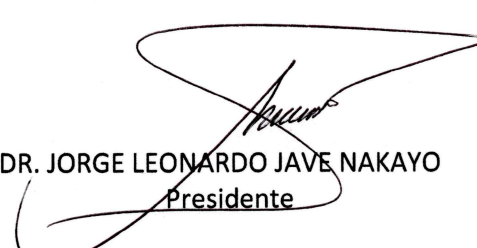
El Secretario del Jurado Examinador de la Tesis, analiza el expediente N° UNMSM-20230105499, de fecha 29 de noviembre del 2023, en el marco legal y Estatutario de la Ley Universitaria, acreditando que tiene todos los documentos y que cumplió con las etapas del trámite según el «Reglamento General de Estudios de Posgrado», aprobado con Resolución Rectoral N° 04790-R-18 del 08 de agosto del 2018.

Luego de la Sustentación, se procede con la calificación de la Tesis, de acuerdo al procedimiento respectivo y se registra en el acta correspondiente de conformidad al Art. 72 del precitado Reglamento, correspondiéndole al graduando la siguiente calificación:

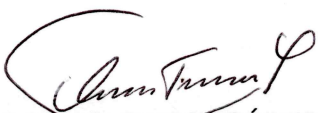
Muy Bueno (18)

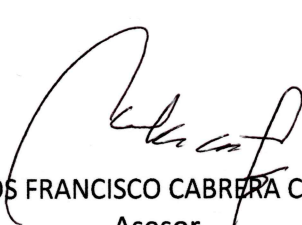
Habiendo sido aprobada la sustentación de la Tesis, el Presidente recomienda a la Facultad se le otorgue el **GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR** en **CIENCIAS AMBIENTALES** al Mg. **MARIO ALCARRAZ CURI**.

Siendo las 11:00 horas, se dio por concluido al acto académico.


DR. JORGE LEONARDO JAVE NAKAYO
Presidente


DR. WALTER JAVIER DÍAZ CARTAGENA
secretario


DR. OSCAR RAFAEL TINOCO GÓMEZ
Miembro


DR. CARLOS FRANCISCO CABRERA CARRANZA
Asesor



Anexo 1

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dr. CARLOS FRANCISCO CABRERA CARRANZA en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la **UPG** N° 000142-2024-UPG-VDIP-FIGMMG/UNMSM de la tesis, cuyo título es **«DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE SISTEMA MICROBIANO PARA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS CONTAMINADOS CON CADMIO»**, presentado por el **magíster** MARIO ALCARRAZ CURI, para optar el grado académico de DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES, **CERTIFICO** que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **08%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado académico de DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES.

Lima, 30 de Octubre de 2025



Firmado digitalmente por CABRERA
CARRANZA Carlos Francisco FAU
20148092282 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 31.10.2025 13:23:14 -05:00

Firma del Asesor _____

Nombres y Apellidos del asesor: CARLOS FRANCISCO CABRERA CARRANZA

DNI: 17402784

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

DEDICATORIA

A Celso y Julia mis amados padres, pilares de mi vida, por sus sacrificios silenciosos y por su amor sin límites, con eterna gratitud.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, casa de pensamiento y sendero de posibilidades.

A mi asesor Dr. Carlos Cabrera Carranza, guía paciente en el desarrollo de esta tesis, por su palabra precisa, su escucha generosa y su confianza constante.

A mis jurados Dr. Jorge Leonardo Jave Nakayo, Dr. Walter Javier Díaz Cartagena, Dr. Oscar Rafael Tinoco Gómez por su voz crítica, respetuosa y generosa que me ayudó a comprender el conocimiento como un dialogo continuo.

A mi familia, brújulas de mi alma y motivo constante de superación, para que un día sepan que todo es posible cuando se camina con el corazón encendido.

ÍNDICE GENERAL

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Situación Problemática.....	1
1.2. Formulación del Problema.....	3
1.3. Justificación teórica.....	3
1.4. Justificación práctica.....	4
1.5. Objetivos.....	5
1.6.1. <i>Objetivo general</i>	5
1.6.2. <i>Objetivos específicos</i>	5
CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Marco Filosófico o epistemológico de la investigación	7
2.2. Antecedentes de investigación	11
2.3. Bases Teóricas	20
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	30
CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados.....	39
4.2. Pruebas de hipótesis.....	70
4.3. Presentación de resultados	72
CAPITULO 5: IMPACTOS	73
5.1. Propuesta para la solución del problema.....	73
5.2. Costos de implementación de la propuesta	73
5.3. Beneficios que aporta la propuesta	74
RECOMENDACIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

Lista de cuadros

Cuadro 1 Esquema de preparación de solución de cadmio	33
Cuadro 2 Microorganismos aislados de suelos cacaoteros de la selva central	39
Cuadro 3 Relación de microorganismos tolerantes a una concentración de 200ppm de Cadmio.	42
Cuadro 4 Medidas de los diámetros de las colonias bacterianas en milímetros	44
Cuadro 5 Medidas de los diámetros de las colonias fúngicas en milímetros.	45
Cuadro 6 Microorganismos seleccionados, por cada grupo, con capacidad de adsorción por encima de 30%.....	60
Cuadro 7 Microorganismos con mayor capacidad de biosorción de cadmio	61
Cuadro 8 Consorcios microbianos establecidos para los experimentos de biorremediación	61
Cuadro 9 Análisis del contenido de cadmio total en las plantas de cacao luego de 2 meses de crecimiento inoculados con el consorcio microbiano, en comparación con el control no inoculado	62
Cuadro 10 Estimación de costos de la propuesta	74

Lista de gráficos

Gráfico 1 Porcentaje de microorganismos aislados de suelos contaminados con cadmio.....	41
Gráfico 2 Representación de los microorganismos que muestran resistencia a 200 ppm.	43
Gráfico 3 Representación de las bacterias que muestran resistencia a 400 ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.	43
Gráfico 4 Representación de las bacterias que muestran resistencia a 800ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.	44
Gráfico 5 Representación de los hongos que muestran resistencia a 400 ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.	47
Gráfico 6 Representación de los hongos que muestran resistencia a 800ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.	47
Gráfico 7 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio A, frente a plantas control	64
Gráfico 8 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio B, frente a plantas control	64
Gráfico 9 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio C, frente a plantas control	65
Gráfico 10 Comparación, de los consorcios y el control, respecto a la eficacia para reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos cacaoteros.	65
Gráfico 11 Comparación, entre los consorcios respecto a la eficacia para reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos cacaoteros.....	66
Gráfico 12 Concentración de cadmio (ppm) en plantas bajo diferentes tratamientos, donde se observan reducciones medias de 39.10% (A), 64.90% (B) y 64.60% (C) respecto al control.....	71

Lista de figuras

Figura 1. a Cepas de bacterias y Levaduras positivas a una concentración de 200ppm de Cadmio	48
Figura 2. b Cepas de bacterias y Levaduras positivas a una concentración de 200ppm de Cadmio	49
Figura 3. Cepa HK2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	50
Figura 4. Cepa HK5. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	50
Figura 5. Cepa HK6. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	51
Figura 6. Cepa HC. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	51
Figura 7. Cepa H3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	52
Figura 8. Cepa H3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	52
Figura 9. Cepa TP2H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	53
Figura 10. Cepa TP2H5. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	53
Figura 11. Cepa AP1H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	54
Figura 12. Cepa AP3H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	54
Figura 13. Cepa AP3H4. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	55
Figura 14. Cepa AP3H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	55
Figura 15. Cepa JH3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	56
Figura 16. Cepa MP4H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	56
Figura 17. Cepa J2E2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	57
Figura 18. Cepa J2E1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	57
Figura 19. Cepa F2H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	58
Figura 20. Cepa F2H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	58
Figura 21. Cepa F1E. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	59
Figura 22. Cepa F1S. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	59
Figura 23. Cepa C2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.	60

Resumen

La presente investigación titulada “Desarrollo de un prototipo de sistema microbiano para biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio” busca aportar una solución biotecnológica sostenible frente al problema del cadmio en suelos cacaoteros del Perú, especialmente en la región Junín, donde los niveles de este metal superan los límites permisibles de la Unión Europea, afectando la exportación de cacao y la economía de los agricultores.

El objetivo general fue desarrollar un sistema microbiano capaz de reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos agrícolas, favoreciendo la remediación y disminuyendo la acumulación en las plantas de cacao. Para ello, se aislaron 237 microorganismos nativos (104 bacterias, 118 hongos y 15 actinomicetos) de suelos contaminados. Las cepas fueron evaluadas en su tolerancia a distintas concentraciones de cadmio (200, 400 y 800 ppm), seleccionándose aquellas con mayor capacidad de bioadsorción y bioacumulación.

Los resultados evidenciaron reducciones significativas del cadmio en suelos y tejidos vegetales: 39.10%, 64.90% y 64.60% en los distintos ensayos, en contraste con el grupo control (14.45 ppm). Esto confirma que los microorganismos seleccionados no solo toleran altas concentraciones de cadmio, sino que también contribuyen a inmovilizarlo, reduciendo su biodisponibilidad.

La investigación concluye que la biorremediación mediante consorcios microbianos constituye una alternativa eficaz, sostenible y de bajo costo frente a métodos químicos o físicos. Además, la tecnología propuesta es transferible a agricultores y cooperativas, con potencial de aplicación no solo en cacao, sino también en otros cultivos de exportación.

Palabras clave: cadmio, biorremediación, cacao, microorganismos, consorcios microbianos, suelos agrícolas.

Abstract

The research entitled “Development of a microbial system prototype for the bioremediation of agricultural soils contaminated with cadmium” addresses the urgent need for sustainable solutions to cadmium contamination in cocoa-growing soils of Peru, particularly in the Junín region. Cadmium levels in these soils exceed the maximum permissible limits established by the European Union, directly affecting cocoa exports and the livelihoods of small farmers.

The main objective was to develop a microbial system capable of reducing cadmium bioavailability in agricultural soils, thereby favoring remediation and decreasing cadmium accumulation in cocoa plants. A total of 237 native microorganisms (104 bacteria, 118 fungi, and 15 actinomycetes) were isolated from contaminated soils. Strains were tested for tolerance to cadmium concentrations of 200, 400, and 800 ppm, and those with the highest bioadsorption and bioaccumulation capacities were selected. Microbial consortia were then formulated and immobilized on inorganic supports such as zeolite, dolomite, and carbon activated.

Results demonstrated significant reductions in cadmium levels in soils and plant tissues: 39.10%, 64.90%, and 64.60% across experiments, compared with the control group (14.45 ppm). These findings confirm that the selected microorganisms not only tolerate high cadmium concentrations but also actively contribute to its immobilization and reduced bioavailability.

The study concludes that bioremediation through microbial consortia represents an effective, sustainable, and low-cost alternative compared to chemical or physical methods. Moreover, the proposed technology has potential for technology transfer to farmers and cooperatives, and its application could extend beyond cocoa to other export crops such as coffee and fruits, strengthening agricultural competitiveness.

Keywords: cadmium, bioremediation, cocoa, microorganisms, microbial consortia, agricultural soils.

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación Problemática

Los niveles de contaminación por cadmio (Cd) en suelos agrícolas configura un desafío ecológico. Se estima que entre el 14 % y el 17 % de las tierras cultivadas en el mundo aproximadamente 242 millones de hectáreas están contaminadas con metales pesados como cadmio, poniendo en riesgo la salud humana, la seguridad alimentaria y la productividad agrícola (Kayiranga et al., 2023; Yang et al., 2025). El cadmio es el metal pesado más común en suelos agrícolas contaminados, abarcando grandes áreas de suelos (Hou et al., 2025). A nivel internacional, esta contaminación compromete los ecosistemas y perjudica mercados agrícolas sensibles, dado que el cadmio puede acumularse en los productos alimentarios y generar consecuencias tóxicas graves (Velásquez-Vélez, Galvis-Lora, Mejía-Córdoba, Zapata-Guzman, et al., 2022). En el contexto nacional de Perú, el Ministerio del Ambiente establece un límite máximo de cadmio en suelo agrícola de 1,4 ppm (Rosales-Huamaní et al., 2021). Una investigación desarrollada conjuntamente por expertos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), el Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) y la Universidad de Florida, sostiene que el cacao de Perú tiene un elevado nivel de cadmio. Los reportes científicos revelan avances importantes sobre el Cd en granos de cacao. En la región, los valores medios más altos reportados lo encabezan Perú, Costa Rica, Venezuela y Ecuador (Rofner, 2021b). Los estudios demuestran que, el cacao producido en Perú supera el umbral permitido de cadmio por la Unión Europea. Por ejemplo, en el Alto Huallaga el contenido promedio de cadmio en los granos de cacao es de 1.53 ppm y en el suelo es de 0,53 ppm (Huamani, 2014), los cuales fueron determinados a través del análisis de 342 muestras de suelo y granos de cacao. El contenido de cadmio en los granos de cacao en el valle del Alto Huallaga, son altos y supera los límites máximos permitidos por la

Unión Europea, esto evidencia que muchos suelos agrícolas peruanos podrían no cumplir con los estrictos estándares internacionales, comprometiendo la posibilidad de exportación.

Recientemente la Unión Europea aprobó el reglamento N° 488/2014 en el cual se establecen nuevos límites máximos de contenidos de cadmio, para cacao en polvo el límite máximo permitido es de 0.8 ppm y para grano de cacao seco es de 0.5 ppm. Un caso local relevante es el cultivo de cacao en la región de Huánuco, en Tingo María Cooperativa Agraria Industrial Naranjillo donde se han detectado concentraciones de cadmio en suelo entre 1,12 y 1,80 mg/kg, superando el límite de 1,00 mg/kg establecido por la Unión Europea para productos derivados del cacao (Cárdenas Morales, 2012).

El cadmio en el suelo: no se degrada, siendo altamente persistente en el ambiente, reduce la calidad del suelo y afecta el crecimiento vegetal, ya que interfiere en la absorción de nutrientes y la fotosíntesis, es cancerígeno y altamente tóxico para los seres vivos, representando un riesgo para la salud humana (Tennakoon et al., 2025).

Los métodos tradicionales de remediación, como los físicos y químicos, suelen implicar procesos costosos, complejos y, en muchos casos, dejan tras de sí nuevos residuos que también afectan al ambiente. Frente a estas limitaciones, la biorremediación basada en microorganismos surge como una opción más amigable con la naturaleza: es una alternativa sostenible, menos invasiva y con menor huella ambiental. Aunque ya ha sido aplicada en otros escenarios, su potencial para disminuir la presencia y la movilidad del cadmio en suelos agrícolas abre una oportunidad real para recuperar la salud de la tierra y asegurar cultivos más seguros (Zulfiqar et al., 2023a). Hoy en día, no contamos con soluciones realmente eficaces, accesibles y sostenibles para enfrentar la contaminación por cadmio en los suelos agrícolas del Perú. Este problema se vuelve aún más preocupante cuando hablamos de cultivos de gran importancia estratégica y de exportación, como el cacao, que son clave para miles de familias productoras y para la economía nacional. La presencia de este metal pesado no solo amenaza la salud del suelo y de los alimentos que

consumimos, sino que también pone en riesgo la seguridad alimentaria, la salud de las personas y la competitividad del país en los mercados internacionales. Frente a este panorama, la presente investigación propone desarrollar un prototipo de sistema microbiano para la biorremediación surge como una alternativa prometedora: una herramienta capaz de disminuir el cadmio en el suelo, recuperar su calidad y reducir de esa manera el porcentaje de cadmio asimilado por la planta de cacao a límites permisibles.

1.2. Formulación del Problema

¿Cómo desarrollar y evaluar un prototipo de sistema microbiano para la biorremediación de suelos agrícolas contaminados, reduciendo la acumulación de cadmio en plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.)?

1.3. Justificación teórica

La presente investigación se gesta por la necesidad de respuestas y alternativas frente al problema de contaminación por cadmio que afecta de manera directa e indirecta la vida humana. Documentada y demostrada está el efecto negativo del cadmio en la salud por lo que las organizaciones internacionales han empezado a tomar serias medidas para poder controlar o mitigar este gran problema, siendo una de ellas el control de este metal en los alimentos de exportación, para lo cual se han establecido límites máximos permisibles que deberán cumplir los países exportadores. Estas nuevas exigencias han generado grandes problemas a diferentes países agroexportadores de cacao como el Perú; pues en promedio superan los nuevos LMP establecidos y sus productos no son aceptados en los mercados internacionales. Esto genera a su vez una cadena de problemas desde el agricultor, acopiador, exportador y por su puesto la economía del país.

Es necesario entonces la generación de conocimientos para afrontar este problema. La academia y centros de investigación estamos llamados a presentar alternativas científico-tecnológicas que permitan la reducción del contenido de cadmio en estos alimentos a límites permitidos. Existen antecedentes de investigaciones dirigidas a este fin mediante el uso de procedimientos físicos, químicos y/o fisicoquímicos y en los últimos años han surgido investigaciones considerando las alternativas biológicas tales como la fitorremediación o la biorremediación en términos generales.

Si bien es cierto que la biorremediación ha cobrado mayor interés frente a las otras alternativas por su sostenibilidad ambiental; sin embargo, los conocimientos y sobre todo la aplicabilidad masiva aún es insipiente. Se requieren más conocimientos respecto a la capacidad de adsorción de cadmio en la estructura microbiana, la posibilidad de propiciar sinergia entre microorganismos tolerantes a cadmio, la factibilidad de establecer sistemas microbianos que puedan potenciar la inmovilización de cadmio, la posibilidad de generar competencia por el cadmio entre la raíz de las plantas y el sistema microbiano incorporado, entre otras.

Generar algunos de estos conocimientos requeridos se plantea como tarea la presente investigación que definitivamente contribuirá en el mejor conocimiento de la biorremediación y su potencial aplicación en campo.

1.4. Justificación práctica

De lograrse el objetivo planteado para la presente investigación y desarrollar el prototipo de sistema microbiano con capacidad de remediar los suelos contaminados con cadmio, mediante la reducción de cadmio biodisponible, probado y validado en campo, se constituiría en herramienta biotecnológica fundamental para la biorremediación de suelos.

De acuerdo con lo proyectado, resultaría en una tecnología de fácil transferencia a los agricultores, a las cooperativas de producción o a

los centros de producción; asimismo, el manejo del mismo pasaría por un tiempo breve de capacitación.

Los agricultores, los más débiles de la cadena productiva, lograrían remediar sus suelos, por lo tanto, el contenido de cadmio en sus plantaciones de cacao disminuiría significativamente y podrán comercializar sus productos a precio justo con mayor apertura de mercado, mejorando sus economías familiares. Este efecto sería replicado en las cooperativas, centros de producción y por supuesto en la economía del país.

Si bien es cierto el control de cadmio se aplica, por el momento, al cacao, muy pronto se aplicarán para diversos alimentos tales como el café, frutas y otros de exportación, entonces la posible tecnología a desarrollar servirá para muchos productos más.

1.5. Objetivos

1.6.1. Objetivo general

Desarrollar y evaluar un prototipo de sistema microbiano para la biorremediación de suelos agrícolas contaminados y la reducción de la acumulación de cadmio en plántulas de cacao. (*Theobroma cacao* L)

1.6.2. Objetivos específicos

- a. Aislar e identificar bacterias, hongos y actinomicetos de suelos contaminados con cadmio.
- b. Evaluar la tolerancia de los microorganismos aislados frente a diferentes concentraciones de cadmio (200, 400 y 800 ppm).
- c. Seleccionar las cepas más resistentes y con capacidad de adsorción superior al 30 %, candidatas para integrar consorcios microbianos.
- d. Formular consorcios microbianos combinando bacterias, hongos y actinomicetos seleccionados para potenciar la bioadsorción y bioacumulación de cadmio.

- e. Evaluar la eficacia de los consorcios microbianos en suelos contaminados utilizados para el cultivo de plántulas de cacao, midiendo el contenido residual de cadmio en suelo.
- f. Comparar el contenido de cadmio en plántulas de cacao inoculadas con los consorcios microbianos frente a plantas control, determinando el porcentaje de reducción logrado.
- g. Identificar el consorcio más eficiente para reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos cacaoteros, validando su potencial como prototipo de biorremediación aplicable a escala agrícola.

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco Filosófico o epistemológico de la investigación

En el presente estudio “Desarrollo de un prototipo de sistema microbiano para la biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio”, adopta un enfoque empírico-analítico de orientación positivista, propio de las ciencias naturales. Este marco epistemológico proporcionó las bases para conducir la investigación de manera objetiva, sistemática y rigurosa, acorde con la naturaleza científica del problema abordado.

Paradigma Empírico-Analítico (Positivista)

La investigación se inscribe en el paradigma positivista, también conocido como empírico-analítico o cuantitativo. Este paradigma, originado en las ciencias físicas y naturales, postula que los fenómenos del mundo real pueden explicarse, predecirse y controlarse mediante el método científico tradicional (Universidad de las Américas & Ramos, 2015).

Dentro de este marco positivista, se responden explícitamente las tres preguntas clave (ontológica, epistemológica y metodológica) que definen cualquier paradigma de la siguiente manera:

- **Ontología (naturaleza de la realidad):** Se adopta una postura realista. Existe una realidad objetiva e independiente relacionada con la contaminación por cadmio en suelos agrícolas. El cadmio presente en el suelo y sus efectos son reales, cuantificables y existen con independencia de las percepciones individuales del investigador. En este sentido, el problema ambiental (suelo contaminado con Cd) es un hecho concreto cuya manifestación (concentraciones de cadmio, impacto en organismos, etc.) puede detectarse y medirse empíricamente.
- **Epistemología (relación entre el investigador y el conocimiento):** La postura asumida es objetivista. El investigador mantiene una distancia objetiva respecto del objeto de estudio (el suelo contaminado y el sistema microbiano), buscando no influir en los fenómenos observados.

El conocimiento se adquiere a través de datos empíricos verificables por ejemplo, mediciones de la concentración de cadmio antes y después de aplicar el consorcio microbiano asegurando la validez mediante la replicabilidad de los resultados. De este modo, la investigación procura descubrir leyes o regularidades (p. ej., la eficacia de ciertos microorganismos para remover cadmio) que existen en la realidad, siguiendo el principio positivista de que es posible aproximarse a la verdad mediante la evidencia experimental.

- Metodología (cómo obtener el conocimiento): Se emplea un método experimental y cuantitativo. La estrategia metodológica incluye el planteamiento de hipótesis y su comprobación mediante experimentos rigurosamente controlados, donde se manipulan variables independientes (p. ej., aplicación de distintos consorcios microbianos o tratamientos) y se observa su efecto en variables dependientes (p. ej., la reducción de cadmio en el suelo o en las plantas cultivadas). El diseño experimental cuenta con grupos control y experimentales para aislar el efecto del tratamiento biológico, y los datos recolectados (concentraciones de metal, indicadores de salud del suelo, crecimiento vegetal, etc.) se analizan estadísticamente. Este énfasis en la medición numérica y el análisis estadístico es coherente con la descripción de Ricoy (2006) sobre las investigaciones positivistas, donde la meta es comprobar hipótesis con evidencia cuantitativa (Universidad de las Américas & Ramos, 2015). La rigurosidad metodológica garantiza que las conclusiones obtenidas (por ejemplo, el nivel de remoción de cadmio logrado por el prototipo microbiano) tengan sustento objetivo y sean reproducibles por otros investigadores, cumpliendo así con los criterios de validez y fiabilidad propios del enfoque empírico-analítico.

Cabe destacar que este paradigma positivista es adecuado dado que el estudio se enmarcó en las ciencias naturales aplicadas (biotecnología ambiental). Históricamente, el positivismo surgió y se consolidó precisamente en las disciplinas científico-naturales, demostrando gran eficacia para generar conocimiento sobre fenómenos fisicoquímicos y biológicos mediante la experimentación sistemática. Siguiendo esa tradición, nuestro estudio confió

en que a través del método científico clásico se pueden obtener hallazgos útiles y objetivos para mitigar un problema ambiental concreto. Además, el carácter científico-tecnológico de este paradigma (Universidad de las Américas & Ramos, 2015) armonizó con el propósito de desarrollar un prototipo (una solución tecnológica basada en ciencia); es decir, la investigación no solo buscó entender un fenómeno, sino también aplicar ese entendimiento de forma práctica y controlada para resolver un problema real de contaminación. Esta combinación de generación de conocimiento y aplicación tecnológica reflejó una perspectiva positivista pragmática, donde se esperó que el conocimiento científico producido tenga efectos tangibles en el mundo real (en este caso, la descontaminación de suelos).

Fundamento científico: Biorremediación del cadmio

Bajo el paraguas epistemológico descrito, la investigación se sustenta en conocimientos científicos previos sobre la biorremediación de contaminantes. La biorremediación es una estrategia tecnológica y ambiental que utiliza organismos vivos (microorganismos, plantas, enzimas) para reducir la concentración o la toxicidad de contaminantes en el ambiente. En esencia, aprovecha los procesos metabólicos naturales de ciertos seres vivos para degradar, transformar o inmovilizar sustancias tóxicas, convirtiéndolas en productos inofensivos o de menor impacto. Como definen Garbisu et al. (2003), se trata de emplear microorganismos o sus procesos bioquímicos para convertir contaminantes en compuestos menos tóxicos o no peligrosos. Este concepto es parte del fundamento teórico de la investigación, ya que el prototipo que se desarrolló fue un consorcio microbiano capaz de remediar suelos contaminados con cadmio.

En el caso específico de los metales pesados como el cadmio (Cd), la biorremediación toma la forma de procesos que no destruyen el elemento (pues los metales no pueden degradarse en el sentido estricto), pero sí alteran su forma o disponibilidad para disminuir su riesgo ambiental. Diversos estudios han demostrado que ciertos microorganismos (bacterias y hongos principalmente) desarrollan mecanismos bioquímicos para tolerar y detoxificar

metales pesados. Algunas bacterias especializadas pueden inmovilizar el cadmio mediante precipitación extracelular de compuestos insolubles: en presencia de ciertas condiciones, los microbios convierten el Cd^{2+} disuelto en sales minerales estables (como carbonato de cadmio, CdCO_3 , o sulfuro de cadmio, CdS) que quedan depositadas en el suelo. Este proceso, conocido como biomineralización, reduce la biodisponibilidad del cadmio al fijarlo en formas químicas menos móviles y menos tóxicas en el entorno (Naddela & Marcial, 2021). Adicionalmente, otros mecanismos microbianos de biorremediación de metales incluyen la biosorción (adsorción del metal en las paredes celulares), la bioacumulación intracelular, y la biotransformación redox (cambio del estado de oxidación del metal a una forma menos tóxica). Todos estos procesos contribuyen a que los contaminantes inorgánicos, si bien no desaparecen del medio, queden estabilizados o inertizados, mitigando su efecto nocivo sobre los organismos y permitiendo la recuperación del suelo contaminado.

Esta base teórica-científica sustentó la hipótesis central de la investigación: es posible desarrollar un consorcio microbiano eficaz que remueva o inmovilice el cadmio presente en suelos agrícolas, reduciendo así la contaminación de manera significativa. La literatura científica reporta casos exitosos de biorremediación de cadmio empleando bacterias cadmio-resistentes y hongos, lo cual brinda un respaldo empírico a nuestro enfoque. Estos antecedentes reforzaron la racionalidad científica de la propuesta: si microorganismos específicos muestran capacidad de mitigar el cadmio en condiciones experimentales, entonces diseñar un sistema que los utilice intencionalmente para tratar suelos fue un camino viable y fundamentado. De esta manera, la confluencia entre el enfoque positivista y la base teórica de la biorremediación proporcionó un marco robusto que llevó a cabo la investigación con éxito, generando conocimiento aplicable que contribuyó a resolver un problema ambiental real bajo los principios de la ciencia.

Finalmente, la responsabilidad del mundo académico en la biorremediación de suelos agrícolas contaminados abarca consideraciones éticas, desarrollo de tecnología, solución de problemas y formación de futuros profesionales. La naturaleza multidisciplinaria de la biorremediación requiere un esfuerzo

colaborativo del mundo académico para avanzar en el campo y garantizar la aplicación ética y eficaz de las técnicas de biorremediación.

2.2. Antecedentes de investigación

2.1.1. Antecedentes internacionales

Schmidt et al., (2025) en Trinidad y Tobago han identificado bioindicadores microbianos asociados con la absorción de Cd en distintos genotipos de cacao. Se encontró que ciertas poblaciones bacterianas de la rizósfera se correlacionan negativamente con la acumulación de Cd en los tejidos, lo que sugiere que la manipulación de la comunidad microbiana del suelo podría ser clave para controlar el ingreso del metal en la planta.

Liang et al. (2025) Aislaron cepas de *Bacillus cereus* resistentes a Cd de suelos mineros, con alta bioadsorción y producción de sideróforos. Estos metabolitos aumentan la inmovilización de metales. Su aporte es evidenciar cepas bacterianas con mecanismos duales de detoxificación y promoción de la solubilización de nutrientes, lo que es estratégico para desarrollar un sistema microbiano eficiente.

Ramos Suárez et al. (2025) Identificaron hongos filamentosos nativos de suelos mineros contaminados, entre ellos *Paecilomyces lilacinus* y *Fusarium oxysporum*, con alta tolerancia a Cd (IC₅₀ de 25–311 mg/L). Este trabajo aporta la idea de complementar el sistema bacteriano con hongos, que muestran estrategias únicas de inmovilización y colonización en ambientes severamente contaminados.

Liu et al. (2024) evaluaron la aplicación de *Bacillus siamensis* R27 en lechuga y observaron que esta bacteria no solo adsorbió Cd en un 80.1%, sino que también redujo significativamente la acumulación del metal en tejidos vegetales, mejorando al mismo tiempo el crecimiento de las plantas. Esto confirma que los rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR) pueden cumplir un doble rol: mitigar contaminantes y estimular el desarrollo vegetal.

Morejón-Lucio & Morejón-Centeno (2024) La revisión, enfocada en cacao, describe distintas técnicas para reducir el Cd en suelos y granos. Destaca la utilidad de bacterias y hongos en la inmovilización del metal, reduciendo su biodisponibilidad. Su valor como antecedente es doble: primero, conecta la problemática del Cd con un cultivo de alta relevancia económica (cacao); segundo, propone que la biorremediación es viable como complemento de prácticas agronómicas. Esto permite orientar el prototipo hacia sistemas aplicables en cultivos estratégicos.

Zhao et al. (2024) Analizaron cómo las micorrizas arbusculares asisten en la fitorremediación de suelos contaminados con Cd. Estas asociaciones simbióticas reducen la absorción de Cd en raíces, modulan antioxidantes y mejoran la nutrición vegetal. El aporte es integrar la dimensión planta-microorganismo, lo que permite concebir un prototipo que no actúe de manera aislada, sino en interacción con los cultivos.

Tang et al. (2024) Revisión sobre mecanismos de acción microbiana para detoxificar metales pesados. Explica con detalle biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización. Su valor como antecedente es proporcionar el marco conceptual que justifica la capacidad de los microorganismos para actuar sobre el Cd en suelos. Este conocimiento guía el diseño del prototipo, indicando qué rutas metabólicas aprovechar.

Abo-Alkasem et al. (2023) Revisión general sobre biorremediación microbiana de metales, destacando ventajas económicas y ambientales frente a métodos físico-químicos. Describe mecanismos como la formación de quelatos y reacciones enzimáticas. Su aporte es sustentar que la biorremediación es un enfoque viable y escalable para contextos agrícolas, alineado con criterios de sostenibilidad.

Zulfiqar et al. (2023b) publicaron una revisión que documenta casos exitosos de biorremediación microbiana de Cd en diferentes países, destacando que la adsorción, bioacumulación y biotransformación microbiana permiten alcanzar tasas de remoción cercanas al 98%. Esta revisión refuerza la importancia de consorcios microbianos como estrategia más eficaz frente al uso individual de cepas. Esta revisión exhaustiva recopila los avances más

recientes en la remediación asistida por microorganismos de suelos contaminados con cadmio, reportando remociones de hasta 98%. El artículo analiza la eficacia de bacterias, hongos y algas, no solo en laboratorio, sino también en aplicaciones de campo. El aporte principal radica en demostrar que la combinación de distintos grupos microbianos (consorcios) maximiza la eficiencia de la biorremediación, lo cual sienta una base sólida para diseñar prototipos integrados que incluyan varios mecanismos de detoxificación.

Luo, et al. (2023) en su trabajo revelando el desempeño de una nueva bacteria alcalinizante *Enterobacter* sp. LYX-2 en inmovilización de Cd disponible, demostraron que dicha bacteria podía resistir 400 mg/l de Cd de suelo contaminado con Cd, que inmovilizó el 96,05 % de Cd²⁺ del medio. El análisis de distribución de Cd demostró que más de la mitad del Cd²⁺ se convirtió en Cd precipitado extracelular a través de la movilización del mecanismo de producción de álcali por la cepa LYX-2, logrando la alta eficiencia de inmovilización de Cd²⁺. Los experimentos de biosorción revelaron que la cepa LYX-2 tenía una capacidad superior de biosorción de 48,28 mg/g para Cd. Los resultados anteriores indicaron que la cepa alcalinizante LYX-2 altamente resistente al Cd, como un pasivador microbiano novedoso, tenía una excelente capacidad y valor de reutilización para lograr la remediación del suelo contaminado con Cd junto con la producción segura de vegetales simultáneamente.

Ser, et al. (2023) trabajaron con *Pseudomonas fluorescencia* y *Trichoderma* spp. tolerante a metales y productora de sideróforos, llegando a conclusión que las cepas microbianas redujeron la absorción de Cd por parte de las plantas. Por ejemplo, la absorción de Cd en los tejidos de la raíz se redujo en un 42 y un 34 % cuando se administraron 25 µg Cd Kg⁻¹- las plantas de garbanzo tratadas se inocularon con *P. fluorescence* PGPR-7, *Trichoderma* sp. T-4 y coinoculación (PGPR-7 + T4) de ambas cepas, respectivamente. Por lo tanto, a partir de la observación actual, se sugiere que la inoculación dual de *P. fluorescencia* tolerante a metales y *Trichoderma* sp. potencialmente puede usarse en la desintoxicación y recuperación de suelos contaminados con metales.

Sun, et al. (2023) investigaron Los hongos micorrízicos arbusculares y su influencia en la absorción de cadmio en el cáñamo industrial (*Cannabis sativa* L.) para lo cual especies de plantas resistentes a metales pesados, *Cannabis sativa* L. fue inoculada con *Rhizophagus irregularis* para investigar los mecanismos de micorrizas para mejorar la capacidad de remediación de Cd de *C. sativa*. Los resultados mostraron que después de la inoculación con *R. irregularis*, el contenido de Cd de la raíz de *C. sativa* aumentó significativamente y el enriquecimiento de Cd de la hoja disminuyó significativamente. Sus hallazgos revelaron que, mediante la regulación del movimiento de las moléculas de la raíz, el hongo micorrízico arbuscular mejoró aún más la tolerancia a los metales pesados de *C. sativa*, mientras tanto, cambiaron las formas químicas del Cd al alterar la composición de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular, lo que a su vez afectó biodisponibilidad de Cd en el suelo.

Zhang, et al. (2023). Trabajaron con bacterias solubilizadoras de fosfato resistentes al cadmio inmovilizadas en biocarbón modificado con molienda de bolas de ácido fosfórico para mejorar la pasivación del cadmio del suelo y la biodisponibilidad del fósforo y demostraron que el método microbiológico se considera una estrategia potencialmente efectiva que no solo puede remediar el suelo contaminado con Cd, sino que también proporciona el fósforo necesario para el crecimiento de los cultivos. Sin embargo, la toxicidad del Cd puede afectar la actividad de los microorganismos. Para solucionar este problema, *Klebsiella variicola* con excelente capacidad de solubilización de fosfato (155,30 mg L⁻¹ a las 48 h) y tasa de adsorción de Cd (90,84 % con 10 mg L⁻¹ concentración inicial de Cd) se aisló e identificó por primera vez en este estudio. Luego, se seleccionó un biocarbón modificado (PBC) de ácido fosfórico y molienda de bolas como vehículo para promover las actividades de *K. variicola* bajo la contaminación por Cd. Concluyeron que la aplicación de MPBC tiene el potencial de actuar como un producto sostenible eficiente, estable y respetuoso con el medio ambiente para la remediación de Cd y una mayor biodisponibilidad de P en la producción agrícola.

Quiroga-Mateus et al. (2022). En su estudio aislaron bacterias cadmio-tolerantes en suelos cacaoteros de Antioquia y demostraron que estos

microorganismos no solo sobreviven en ambientes con altas concentraciones de Cd, sino que además pueden inmovilizar parte del metal en el suelo, reduciendo su transferencia a las plantas. Sus hallazgos sugieren que la microbiota nativa de plantaciones de cacao puede aprovecharse como bioinsumo para mitigar riesgos en la cadena productiva.

De Wet, et al (2020). Estudiaron una cepa resistente al plomo de *Aspergillus piperis*, un subgrupo de *A. Niger* con conocidas propiedades de remediación de metales pesados, fue probada para resistencia a metales pesados. Se utilizó el método de difusión en pozo de agar con soluciones metálicas que contenían 2000 ppm de cobre (Cu(II)), hierro (Fe(II)), plomo (Pb(II)), magnesio (Mg(II)), manganeso (Mn(II) VI)), iones de selenio (Se(VI)), cadmio (Cd(II)) y zinc (Zn(II)), respectivamente. De los metales probados, *A. piperis* solo exhibió una inhibición sustancial del crecimiento en Cd(II) hasta 23 mm desde el centro del pozo, mientras que simultáneamente inhibía completamente la formación de esporas. Se observó una inhibición menor en Se(IV), Pb(II) y Zn(II), de los cuales los dos últimos mostraron evidencia de que se desarrolló una resistencia adicional al metal durante la incubación. Después de cinco días, el hongo había crecido con éxito en presencia de todos los demás metales, por lo que *A. piperis* es un candidato prometedor para la investigación de micorremediación de metales pesados.

Diez-Marulanda, et al (2023). Realizaron aislamiento de bacterias productoras de ureasa de suelos de fincas de cacao en Santander, Colombia, para la remediación de cadmio. En este estudio, se aislaron e identificaron 12 bacterias ureasa positivas capaces de crecer en presencia de Cd(II). Se seleccionaron tres en función de la actividad de la ureasa, la formación de precipitados y el crecimiento, dos pertenecientes al género *Serratia* (códigos 4.1a y 5b) y uno a *Acinetobacter* (código 6a). Estos aislados exhibieron niveles bajos de actividad de ureasa (3.09 , 1.34 y $0.31 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente), pero podría elevar el pH a valores cercanos a 9.0 y producir precipitados carbonatados. Se demostró que la presencia de Cd afecta el crecimiento de los aislados seleccionados. Sin embargo, la actividad de la ureasa no se vio influenciada negativamente. Además, se observó que los tres aislamientos eliminaban eficientemente el Cd de la solución. Los dos

aislamientos de *Serratia* presentaron remociones máximas de 99.70% y 99.62%, con Cd(II) 0.05 mM inicial en el medio de cultivo (suplementado con urea y Ca(II)) a 30 °C y 144 h de incubación. Para el aislado de *Acinetobacter*, la eliminación máxima fue del 91,23% en las mismas condiciones. Así, este estudio evidencia el uso potencial de estas bacterias para tratamientos de biorremediación en muestras contaminadas con Cd, y es uno de los pocos reportes que demuestra la alta capacidad de remoción de cadmio de bacterias del género *Serratia*.

Guerra, et al. (2022). Investigaron a *Talaromyces santanderensis* como un nuevo hongo tolerante al cadmio de suelos de cacao en Colombia. Esta nueva especie pertenece a la sección de *Talaromyces* y está estrechamente relacionada con *T. lentulus*, *T. soli*, *T. tumuli* y *T. pratensis* (dentro del complejo de especies de *T. pinophilus*) en la filogenia inferida. El crecimiento del micelio de las cepas fúngicas se sometió a un rango de 0 a 400 mg/kg de Cd y se incorporó en agar de extracto de malta (MEA) por triplicado. El crecimiento radial fúngico se registró cada tres días durante un período de incubación de 13 días y las pruebas de tolerancia al cadmio in vitro mostraron un alto índice de tolerancia (0,81) cuando el micelio se expuso a 300 mg/kg de Cd. Los resultados sugieren que *T. santanderensis* mostró tolerancia a concentraciones de Cd que exceden los límites permisibles para suelos contaminados, y es prometedor para su uso en estrategias de biorremediación para eliminar Cd de suelos agrícolas altamente contaminados

Abid, et al (2022). Estudiaron los efectos combinados de *Bacillus* sp. Cepa M6 y *Sedum alfredii* en la comunidad de rizosfera y biorremediación de suelos contaminados con cadmio, investigaron la comunidad bacteriana rizosférica del hiperacumulador de Cd *Sedum alfredii* utilizando la secuenciación del gen 16S rRNA. Además, la eficiencia de eliminación de Cd de la cepa *Bacillus* sp. M6 se mejoró al complementarlo con biocarbón (C), ácido glutámico (G) y ramnolípido (R) para promover el efecto de fitorremediación del hiperacumulador *S. alfredii*. Hasta donde sabemos, esta es la primera vez que las modificaciones como C, G y R junto con el sistema planta-microbio *S. alfredii*-*Bacillus* sp. M6 se ha utilizado para la biorremediación de Cd. Los resultados mostraron que el CaCl del suelo₂ y el Cd extraíble con DTPA (ácido

dietilentriamina pentaacético) aumentaron un 52,77 y un 95,08 %, respectivamente, en todos los tratamientos M6 en comparación con el control no modificado (CK). *Sedum alfredii* con *Bacillus* sp. M6 suplementado con biocarbón y ramnolípido mostró un mayor efecto de fitorremediación, y la capacidad de eliminación de Cd (II) del suelo alcanzó hasta el 16,47 %. Además, la remediación de suelos contaminados con Cd por *Bacillus* sp. M6 también tuvo un impacto en el microbioma del suelo, incluidas las bacterias oxidantes de amoníaco (AOB), las arqueas oxidantes de amoníaco (AOA) y los genes de ATPasa transportadora de cadmio (*cadA*).

Din, et al (2022). Investigaron la tolerancia al cadmio y potencial de biorremediación del hongo filamentoso *Penicillium chrysogenum* FMS2 aislado del suelo. Encontraron que *P. chrysogenum* FMS2 es resistente al cadmio con un nivel máximo de tolerancia de hasta 1000 mg l⁻¹. La cepa FMS2 puede crecer en una amplia gama de condiciones de temperatura (15 a 35 °C) y pH (4,0 a 12,0). Se observó que la capacidad de eliminación de cadmio de la cepa FMS2 era del 49 ± 0,8 % dentro de los 15 días posteriores a la exposición. Se observaron parches blancos distintivos en micrografías electrónicas de barrido con picos claros de cadmio en espectros espectroscópicos de dispersión de energía que indican biosorción de cadmio. Las micrografías electrónicas de transmisión de barrido y los espectros de pérdida de energía de electrones de las células de la cepa FMS2 revelaron la localización citoplasmática del cadmio

Yu et al., (2021) En Asia, estudiaron suelos agrícolas contaminados con Cd y encontraron que la estructura de la comunidad bacteriana se ve alterada por la presencia del metal. A través del aislamiento de 42 cepas resistentes, identificaron géneros como *Burkholderia* y *Bacillus*, con una capacidad de remoción superior al 80%, demostrando el potencial de estas bacterias en aplicaciones de biorremediación.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Ministerio de la Producción - PRODUCE. (2025) El Plan Nacional de Innovación en Cacao y Chocolate 2021–2030 reconoce que la presencia de cadmio en suelos y granos de cacao es una de las principales amenazas para

la competitividad internacional del cacao peruano. Entre las líneas de acción, plantea impulsar investigaciones en biotecnología, incluyendo el desarrollo de prototipos microbianos para la mitigación del metal pesado.

Morejón-Lucio & Morejón-Centeno (2024b) En una revisión publicada en *Agroindustrial Science*, los autores analizan distintas técnicas de mitigación del cadmio en cacao, tanto agronómicas como biotecnológicas. Concluyen que la biorremediación mediante microorganismos ofrece ventajas claras por su adaptabilidad a los suelos peruanos, bajo costo y alineación con prácticas agrícolas sostenibles.

Velásquez-Vélez, Galvis-Lora, Mejía-Córdoba, & Zapata-Guzman (2022) Este artículo publicado en la revista *Manglar* analiza las implicaciones de la acumulación de cadmio en la cadena productiva del cacao peruano. Se destaca que la presencia del metal constituye una barrera comercial para los productores, limitando el acceso a mercados internacionales. Los autores mencionan la necesidad de implementar tecnologías sostenibles de mitigación, incluyendo la biorremediación microbiana como alternativa viable frente a métodos químicos costosos.

López, (2022). Estudiaron la influencia de suelos contaminados con cadmio en la micorrización y contenido de clorofila en “arroz” *Oriza sativa* (L.) en San Martín, 2022. El estudio estuvo constituido por las concentraciones de cadmio en razón a 0 y 5 mg.kg⁻¹. El Cd como cloruro fue vaciado al sustrato cuidadosamente 15 días antes del establecimiento de las plántulas de arroz, en seguida semillas de arroz fueron sembradas en bandejas germinadoras de 20 cm x 30 cm con arena fina esterilizada. El contenido de cadmio en plantas fue mayor en los tratamientos que recibieron cloruro de cadmio, llegando a alcanzar valores desde 10,68 mg.kg⁻¹ en el sistema radicular y 1,84 mg.kg⁻¹ en las hojas de las plantas del arroz. Mientras que el contenido de clorofila fue de 32,30 MJm⁻¹. Se concluyó que la inoculación de HMA redujo significativamente la absorción de Cd del suelo a la parte aérea en plantas de arroz evaluado a los 90 días en suelos contaminados con cadmio.

Curi et al. (2021) Realizaron aislamiento, identificación morfológica y evaluación de la tolerancia al cadmio de hongos de cultivos de cacao cuyo

objetivo del presente estudio fue evaluar la resistencia al cadmio de hongos aislados de plantaciones de cacao con el fin de aplicarlos para la biorremediación de cadmio en plantaciones de cacao. Las muestras de suelo analizadas procedían de las zonas cacaoteras de Junín, Pucallpa y Mazamari, Perú. Los hongos se aislaron en papa dextrosa agar (PDA) y se identificaron por su apariencia de la colonia. Posteriormente, todas las cepas aisladas se cultivaron en PDA con 87,64 ppm de cadmio para descartar las no resistentes o las poco resistentes. Las cepas positivas se identificaron por su morfología macroscópica y microscópica. La tolerancia al cadmio se calculó midiendo el diámetro de la colonia formada en PDA con 87.64, 175.29 y 350.59 ppm de cadmio. Se aislaron un total de 100 cepas fúngicas, de las cuales 24 presentaron tolerancia a 87,64 ppm, 21 a 175,29 ppm y 16 a 350,59 ppm. Los hongos con mayor tolerancia fueron J2E2 (*Acremonium* sp.), MP4H1 (*Curvularia* sp.), HK6 (No descrito, ND) y JH3 (*Fusarium* sp.) respectivamente. Asimismo, las cepas con mejores índices de tolerancia fueron HK6 (ND), H2 (*Penicillium* sp.), AP3H4 (ND) y J2E2 (*Acremonium* sp.). La investigación permite concluir que los hongos nativos aislados de suelos cacaoteros muestran tolerancia a altas concentraciones de cadmio, por lo que tienen potencial para ser utilizados como biorremediadores en plantaciones de cacao o en otros procesos biotecnológicos. © 2021 Sociedad de Biología y Biotecnología. Reservados todos los derechos. AP3H4 (ND) y J2E2 (*Acremonium* sp.). La investigación permite concluir que los hongos nativos aislados de suelos cacaoteros muestran tolerancia a altas concentraciones de cadmio, por lo que tienen potencial para ser utilizados como biorremediadores en plantaciones de cacao o en otros procesos biotecnológicos.

(Rofner, 2021a) En Perú y países sudamericanos, realizaron un análisis comparativo sobre los niveles de cadmio en suelos y granos de cacao, destacando la necesidad de integrar tecnologías de biorremediación a las prácticas agrícolas para cumplir con las normativas de la Unión Europea. Este autor resalta que, aunque existen diferencias regionales en los contenidos de Cd, los métodos biológicos ofrecen alternativas sostenibles frente a tratamientos físicos o químicos.

2.3. Bases Teóricas

2.3.1. Prototipo de sistema microbiano

El prototipo de sistema microbiano se entiende como la formulación experimental de consorcios bacterianos y fúngicos capaces de sobrevivir y actuar en suelos contaminados con cadmio, reduciendo la biodisponibilidad del metal. Estos sistemas se diseñan bajo el principio de que los microorganismos poseen mecanismos naturales de biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización que les permiten tolerar y detoxificar metales pesados (Tang et al., 2024). Esta aproximación surge de la necesidad de encontrar soluciones biotecnológicas efectivas, sostenibles y de bajo costo frente a métodos fisicoquímicos que, aunque eficaces, suelen ser costosos, invasivos y con impactos secundarios en el ecosistema.

2.3.2. Fundamentación biológica del prototipo microbiano

La eficacia de este tipo de prototipos radica en los mecanismos de resistencia y detoxificación que poseen los microorganismos frente a metales pesados. Entre estos mecanismos se incluyen la biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización, procesos mediante los cuales el cadmio es inmovilizado, transformado o incorporado a estructuras microbianas, reduciendo así su movilidad y biodisponibilidad en el suelo (Tang et al., 2024).

La evidencia científica señala que bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas*, así como hongos como *Penicillium* y *Fusarium*, exhiben alta capacidad de adsorción de cadmio en laboratorio y campo, alcanzando reducciones superiores al 80 % en algunos ensayos (Ramos Suárez et al., 2025; Yu et al., 2021).

2.3.3. Microorganismos como base del prototipo

La investigación de (Yu et al., 2021) reveló que la contaminación con cadmio altera significativamente la estructura de las comunidades bacterianas en suelos agrícolas, pero también permitió aislar 42 cepas bacterianas Cd-

resistentes con alta capacidad de remoción del metal, principalmente de los géneros *Burkholderia* y *Bacillus*.

Por otro lado, (Ramos Suárez et al., 2025) identificaron hongos filamentosos tolerantes a Cd y Pb provenientes de suelos mineros, incluyendo *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizopus* spp., que mostraron valores de IC50 de cadmio entre 25–311 mg/L, evidenciando diferentes estrategias de inmovilización del metal.

La evidencia acumulada indica que la sinergia entre bacterias y hongos es más eficiente que el uso de cepas individuales, ya que combina mecanismos de captura intracelular, secreción de metabolitos quelantes y modificación de la química del suelo (Lam et al., 2022).

Etapas en el desarrollo del prototipo

El desarrollo de un prototipo implica seleccionar microorganismos autóctonos, caracterizarlos molecularmente y combinarlos en un consorcio funcional que maximice la captura del metal, aprovechando la sinergia entre especies (Liu et al., 2024b; Quiroga-Mateus et al., 2022).

El prototipo de sistema microbiano se concibe como una formulación biotecnológica experimental, basada en la integración de consorcios de bacterias y hongos tolerantes a cadmio, seleccionados y combinados estratégicamente para actuar en suelos agrícolas contaminados. Su objetivo es reducir la biodisponibilidad del metal mediante procesos biológicos que inmovilicen, adsorban o transformen el Cd en formas menos tóxicas y menos móviles en el entorno edáfico (Tang et al., 2024).

Este prototipo no se limita al aislamiento de una cepa única, sino que responde a la necesidad de diseñar consorcios microbianos funcionales que aprovechen la diversidad metabólica y la sinergia entre especies. Mientras que ciertas bacterias pueden expresar bombas de eflujo y sideróforos para expulsar o secuestrar metales, algunos hongos desarrollan paredes celulares ricas en quitina, polisacáridos y glicoproteínas que funcionan como superficies de adsorción altamente efectivas (Lam et al., 2022). La combinación de estos

mecanismos incrementa la eficiencia del proceso de remediación frente al uso individual de microorganismos (Zulfiqar et al., 2023c).

Los géneros bacterianos *Bacillus* y *Pseudomonas*, y los hongos como *Penicillium* y *Fusarium*, han sido reportados como los más efectivos en estudios recientes. Ensayos de campo y laboratorio han mostrado reducciones superiores al 80 % en la concentración de Cd en suelos y plantas tratadas con estos microorganismos (Ramos Suárez et al., 2025; Yu et al., 2021). Tales resultados validan su potencial para ser integrados en un prototipo que pueda transferirse a la práctica agrícola.

El proceso de desarrollo del prototipo comprende varias etapas:

1. Aislamiento y selección de cepas autóctonas provenientes de suelos agrícolas contaminados. Estas cepas suelen mostrar mayor adaptabilidad a condiciones locales, incrementando su eficacia (Quiroga-Mateus et al., 2022).
2. Caracterización fenotípica y molecular, para identificar los genes asociados a la resistencia y detoxificación de cadmio, lo que garantiza la estabilidad del consorcio.
3. Formulación del consorcio microbiano, buscando complementariedad de funciones y evitando interacciones antagónicas entre las especies seleccionadas.
4. Pruebas piloto en condiciones controladas y de campo, que permiten evaluar el porcentaje de remoción de Cd en suelo y su impacto en cultivos estratégicos como el cacao (Liu et al., 2024b).

En términos epistemológicos, el prototipo representa una innovación tecnológica de base biológica, alineada con la tendencia global hacia soluciones sostenibles, de bajo costo y amigables con el ambiente para enfrentar la problemática de metales pesados en la agricultura. Su construcción busca, además, contribuir a la seguridad alimentaria y la competitividad internacional de cultivos afectados por la normativa sobre cadmio, como el cacao peruano destinado a exportación (FAO, 2023).

2.3.4. Prototipos microbianos y agricultura sostenible

Los prototipos microbianos representan una alternativa de gran relevancia en la agricultura moderna. Su implementación permite:

- Reducir la acumulación de cadmio en cultivos estratégicos como cacao, arroz o hortalizas.
- Disminuir la dependencia de métodos fisicoquímicos, reduciendo costos y efectos colaterales.
- Alinear la producción agrícola con los estándares internacionales de inocuidad, requisito fundamental para la exportación de cacao peruano hacia mercados europeos (Vendramin et al., 2014).

De acuerdo con (García Porras et al., 2025), la integración de estrategias biotecnológicas, incluyendo el uso de consorcios microbianos no solo contribuye a reducir la bioacumulación de cadmio en la cadena alimentaria, sino que también contribuye a la sostenibilidad ambiental y económica de los sistemas productivos de cacao. Estos enfoques se alinean con la necesidad de garantizar la seguridad alimentaria y la competitividad internacional, en especial frente a las regulaciones cada vez más estrictas sobre los niveles de cadmio en productos derivados del cacao destinados a mercados europeos y norteamericanos.

2.3.5. Biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio

El nivel de biorremediación se refiere a la capacidad cuantificable que poseen los microorganismos, solos o en consorcio, para reducir la concentración de cadmio en suelos agrícolas contaminados y limitar su absorción en plantas cultivadas. Se mide a través de indicadores como la disminución de la concentración total de Cd en el suelo, la reducción del contenido de Cd en tejidos vegetales y el porcentaje de inmovilización logrado en comparación con controles sin tratamiento.

2.3.6. Conceptualización de la biorremediación

La biorremediación se entiende como el conjunto de procesos biológicos que utilizan microorganismos, plantas o enzimas para reducir, transformar o inmovilizar contaminantes presentes en el medio ambiente. En el caso del

cadmio (Cd), un metal pesado de elevada toxicidad y persistencia, el objetivo de la biorremediación es reducir su biodisponibilidad en el suelo agrícola, limitando su absorción por las plantas y su acumulación en la cadena alimentaria (Abo-Alkasem et al., 2023; Zhao et al., 2024).

En este sentido, el nivel de biorremediación se convierte en un indicador cuantificable de eficacia, medido principalmente a través de:

- Reducción de la concentración de cadmio total y biodisponible en suelo (mg/kg).
- Disminución de cadmio absorbido por cultivos (ppm en raíces, hojas y granos).
- Porcentaje de reducción respecto a controles sin tratamiento.

Mecanismos microbianos que determinan el nivel de biorremediación

Los microorganismos poseen múltiples estrategias fisiológicas y bioquímicas que determinan el nivel de biorremediación:

- Biosorción: fijación pasiva de Cd en las paredes celulares, gracias a grupos funcionales como carboxilos, fosfatos y sulfhidrilos.
- Bioacumulación: incorporación activa del metal al interior celular, asociado a proteínas como las metalotioneínas.
- Biotransformación: transformación enzimática de Cd en especies químicas menos solubles y menos tóxicas.
- Biomineralización: precipitación del metal como carbonatos o fosfatos insolubles.

Estos mecanismos actúan de manera complementaria en consorcios bacterianos y fúngicos, lo que explica por qué la sinergia de especies diversas alcanza mayores porcentajes de remoción de cadmio (Huaraca-Fernandez et al., 2020).

La eficacia de los consorcios microbianos en la reducción del cadmio en suelos agrícolas ha sido documentada en diferentes contextos, lo que constituye un respaldo teórico esencial para el desarrollo de prototipos microbianos.

(Carrillo Zenteno et al., 2023) comprobaron que la interacción entre técnicas agronómicas y comunidades microbianas permitió reducir hasta en un 40 %

el cadmio en granos de cacao y arroz, confirmando la sensibilidad del nivel de biorremediación a la gestión integral del suelo:

“La omisión controlada de nutrientes, combinada con la acción de comunidades microbianas nativas, permitió reducir la acumulación de cadmio en granos de cacao y arroz hasta en un 40 %. Este hallazgo confirma que la interacción entre prácticas agronómicas y microbiota del suelo influye directamente en la biodisponibilidad del metal” (Carrillo-Zenteno et al., 2023, p. 120).

De igual manera, (Zhao et al., 2024) demostraron que los hongos micorrícicos arbusculares pueden potenciar significativamente la biorremediación en cultivos al reducir la absorción de cadmio en raíces:

“Las plantas inoculadas con hongos micorrícicos arbusculares presentaron una disminución del 60 % en la concentración de cadmio en raíces, en comparación con controles no inoculados. Estos resultados evidencian el potencial de la simbiosis micorrícica para reducir la captación de metales pesados” (Zhao et al., 2024, p. 12).

La combinación de biosorción y fitorremediación asociada constituye una alternativa prometedora frente a los métodos convencionales de remediación, (Nieves et al., 2019) evidenciaron que los hongos nativos tienen un rol fundamental en la inmovilización de cadmio en suelos agrícolas, alcanzando porcentajes superiores al 50 % mediante mecanismos de biosorción y fitorremediación asociada.

Finalmente, en una revisión de carácter internacional, (Zulfiqar et al., 2023d) resaltaron el potencial de bacterias, hongos y algas en la remoción de cadmio, reportando niveles de eficiencia que alcanzan hasta un 98 % en sistemas controlados, lo que establece una meta para futuros prototipos microbianos:

“Las investigaciones recientes destacan que bacterias, hongos y algas presentan la capacidad de remover hasta un 98 % de cadmio en sistemas controlados, lo cual representa un nivel de eficiencia superior y establece un punto de referencia para el diseño de consorcios microbianos de alta eficacia” (Zulfiqar et al., 2023, p. 5).

2.3.7. Contaminación por cadmio: El cadmio es un metal pesado tóxico que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre. Sin embargo, las actividades humanas, como la industria, la minería y el uso de fertilizantes,

pueden aumentar significativamente los niveles de cadmio en el suelo, lo que conduce a la contaminación (Kubier et al., 2019). El cadmio es altamente persistente en el suelo y puede acumularse en los tejidos de plantas y organismos, lo que representa riesgos para la salud humana y el medio ambiente (Haider et al., 2021).

2.3.7.1. Interacción suelo-cadmio. El comportamiento del cadmio en el suelo está influenciado por factores edáficos como el pH, la textura del suelo, la materia orgánica y la proporción de arcillas, que afectan su movilidad y disponibilidad para organismos vivos. (Li & Ma, 2025) encontraron que suelos con menor pH y bajo contenido de materia orgánica mostraban fracciones más móviles de Cd en la rizósfera. De igual forma, (Pikuła & Stępień, 2021) demostraron que ajustar el pH hacia valores más neutros, incrementar materia orgánica y la fracción de arcilla reduce la lixiviación de Cd en suelos contaminados.

2.3.7.2 Remediación de suelos. La remediación de suelos contaminados con metales pesados es esencial para restaurar su calidad. Se pueden emplear distintos métodos químicos, físicos y biológicos para eliminar o reducir la concentración de metales tóxicos en el suelo. Los métodos físicos y químicos incluyen la aplicación de agentes químicos quelantes, lavado o extracción del suelo, barreras de contención o tratamientos térmicos, los cuales a menudo resultan costosos, invasivos y con riesgos de generar residuos secundarios (Xu et al., 2024). Por ello, los métodos biológicos que utilizan organismos vivos microorganismos o consorcios microbianos son una alternativa prometedora, pues tienden a ser más sostenibles, menos dañinos para el ecosistema y con menores costos operativos (Nie et al., 2024).

2.3.7.3. Biorremediación. La biorremediación de suelos contaminados con cadmio se basa en la capacidad de ciertos microorganismos y plantas para tolerar y acumular cadmio en sus tejidos. Algunas bacterias y hongos tienen la capacidad de resistir y transformar el cadmio mediante mecanismos como la adsorción y bioadsorción, producción de quelantes, y alteración química del suelo (Zulfiqar et al., 2023e). Por otro lado, plantas hiperacumuladoras pueden absorber y acumular altos niveles de cadmio en

sus partes aéreas; tales plantas y sus estrategias de optimización para aumentar la biomasa y la acumulación han sido analizadas en estudios recientes como el de (Subašić et al., 2022), que revisa la capacidad y los factores que incrementan esa acumulación vegetal.

2.3.7.4. Mecanismos de acción. Los microorganismos y plantas utilizados en la biorremediación de suelos contaminados con cadmio empleando diferentes mecanismos para interactuar con este metal. Estos mecanismos incluyen la producción de enzimas que descomponen compuestos de cadmio, la formación de complejos y la precipitación de cadmio en formas menos tóxicas, y la acumulación y transporte del metal a través de raíces y tejidos vegetales. La comprensión de estos mecanismos es crucial para optimizar las estrategias de biorremediación y mejorar la eficacia del proceso (Pande et al., 2022).

2.3.7.5. Técnicas de biorremediación: Existen varias técnicas utilizadas en la biorremediación de suelos contaminados con cadmio, que se pueden clasificar en dos categorías principales:

- **Fitorremediación:** Esta técnica se basa en el uso de plantas para acumular y extraer el cadmio del suelo. Se seleccionan plantas hiperacumuladoras de cadmio y se cultivan en el suelo contaminado. Las plantas absorben el cadmio a través de sus raíces y lo acumulan en sus partes aéreas, lo que permite su posterior cosecha y eliminación controlada. Se han descrito algunas especies hiperacumuladoras, tales como *Potamogeton crispus*, *Rorippa globosa* y *Atriplex halimus* (Dou et al., 2019).
- **Bioaumentación:** En esta técnica, se añaden microorganismos específicos al suelo contaminado para degradar o transformar el cadmio (Kurniawan et al., 2022). Estos microorganismos pueden ser autóctonos (nativos del suelo) o exógenos (añadidos al suelo). Se proporcionan condiciones óptimas para el crecimiento y actividad de los microorganismos, como temperatura, pH adecuado, nutrientes, entre otros.

2.3.7.6. Monitoreo y evaluación. Durante todo el proceso de biorremediación, es esencial realizar un monitoreo continuo para evaluar la eficacia de las técnicas utilizadas y el progreso de la remediación. Esto implica muestrear y analizar periódicamente el suelo y las plantas para medir los niveles de cadmio y otros parámetros relevantes, como la actividad microbiana y la calidad del suelo. El monitoreo a largo plazo también es importante para evaluar la persistencia de los efectos de la biorremediación y garantizar la estabilidad a largo plazo del suelo tratado.

Se basa en la comprensión de la contaminación por cadmio, las interacciones suelo-cadmio, los mecanismos de acción de los microorganismos y plantas hiperacumuladoras, y las técnicas de biorremediación utilizadas. Este conocimiento es fundamental para desarrollar estrategias eficaces y sostenibles que permitan la restauración de suelos contaminados con cadmio y la protección del medio ambiente.

2.4. Marco conceptual

La biorremediación es una estrategia de remediación ambiental que utiliza organismos vivos, como bacterias, hongos o plantas, para degradar o eliminar los contaminantes presentes en el suelo, el agua o el aire. En el caso específico de la biorremediación de suelos contaminados con cadmio, se busca reducir los niveles de este metal pesado y restaurar la calidad del suelo.

El marco conceptual para la biorremediación de suelos contaminados con cadmio puede dividirse en varias etapas clave:

2.4.1. Caracterización del sitio: Esta etapa implica la identificación y evaluación de la contaminación por cadmio en el suelo. Se deben realizar pruebas y análisis para determinar la concentración de cadmio, la extensión de la contaminación y las características del suelo, como su pH, contenido de materia orgánica y capacidad de retención de agua.

2.4.2. Selección de organismos. En esta etapa, se seleccionarán los organismos adecuados para llevar a cabo la biorremediación. Pueden emplearse bacterias, hongos o plantas que posean la capacidad de acumular, inmovilizar o transformar el cadmio en formas menos tóxicas. Es importante

considerar la resistencia de los organismos al cadmio y su capacidad de crecimiento en el suelo contaminado.

2.4.3. Mejora del suelo. Antes de aplicar los organismos seleccionados, es posible que sea necesario mejorar las condiciones del suelo. Esto puede implicar ajustes en el pH, la adición de materia orgánica para mejorar la estructura del suelo y aumentar la capacidad de retención de agua, y la incorporación de nutrientes necesarios para el crecimiento de los organismos seleccionados.

2.4.4. Aplicación de organismos. En esta etapa, los organismos seleccionados se aplican al suelo contaminado con cadmio. Esto puede hacerse mediante la inoculación directa de bacterias o hongos, o mediante la siembra de plantas capaces de acumular cadmio en sus tejidos.

2.4.5. Monitoreo y seguimiento. Durante el proceso de biorremediación, es esencial realizar un monitoreo regular para evaluar la eficacia de la técnica. Esto implica medir la concentración de cadmio en el suelo a lo largo del tiempo y realizar análisis biológicos para determinar la viabilidad y actividad de los organismos empleados.

2.4.6. Evaluación de los resultados. Al finalizar el proceso de biorremediación, se evalúan los resultados obtenidos. Esto implica comparar los niveles de cadmio antes y después del tratamiento, así como evaluar la calidad del suelo en términos de sus características físicas, químicas y biológicas.

Es importante destacar que la biorremediación de suelos contaminados con cadmio es un proceso complejo y puede requerir la combinación de diferentes técnicas, como la fitoextracción (utilización de plantas para extraer el cadmio del suelo), la bioacumulación (acumulación del cadmio en los tejidos de los organismos seleccionados) y la biotransformación (transformación del cadmio en formas menos tóxicas). La eficacia de la biorremediación puede depender de factores como la concentración inicial de cadmio, las condiciones ambientales y la selección adecuada de organismos.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de la investigación

Tipo: Aplicada, porque se aplicará conocimiento científico para resolver un problema real de suelos contaminados con cadmio de la cooperativa, cuya posible solución encontrada se pueden aplicar a la población en estudio.

Diseño: Experimental, porque se investigará el efecto de la variable independiente (sistema microbiano) sobre la variable dependiente (biorremediación del suelo agrícola)- Enfoque cuantitativo. Alcance: Explicativo causal

3.2. Unidad de análisis

Suelo agrícola contaminado con Cadmio de la Cooperativa Santa Rosa Chiriari, Mazamari, Satipo. Departamento de Junín.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población. Tierras de cultivo de cacao de la selva central, departamento de Junín que comparten condiciones edáficas y climatológicas

3.3.2. Tamaño de la muestra. La cooperativa Santa Rosa de Chiriari de Mazamari Junín con 5 hectáreas, el muestreo de acuerdo con la teoría muestral considerando un nivel de confianza de 95% y un error de 3%

3.3.3. Selección de la muestra: De manera aleatoria simple.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos (Metodología)

La recolección de datos y la consecución de los objetivos se realizarán secuencialmente de acuerdo con el siguiente protocolo:

- 1 Aislamiento y reactivación de microorganismos con capacidad de tolerancia a cadmio**

1.1 Aislamiento de nuevas cepas con capacidad de bioadsorción de Cadmio

a) Para hongos

- i) Se obtuvieron muestras de suelo contaminado con cadmio (aprox. una profundidad de 20 cm. por muestra)
- ii) Se colocó la tierra en bolsas ziploc y refrigeradas a 4 °C hasta su uso en las pruebas.
- iii) Se prepararon suspensiones de 25ml al 1% de las muestras de tierra en solución salina estéril y se llevó al vórtex por (30, 60, 180, 300 segundos) y se diluyó la suspensión hasta concentraciones de 10^{-4} y 10^{-5} .
- iv) Con una micropipeta, se tomó 1mL de cada una de las diluciones e se inoculó el contenido en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA) (el agar puede estar suplementado con cloranfenicol al 0,05% para evitar el desarrollo de bacterias) por diseminado. Se realizó la inoculación de cada solución en duplicado
- v) Se incubó las placas Petri a 27 °C por 7 días y, tras el desarrollo de varias colonias, se aisló para obtener cepas puras.

b) Para bacterias

- i) Se obtuvieron muestras de suelo contaminado con cadmio (aprox. una profundidad de 20 cm. por muestra)
- ii) Se colocó la tierra en bolsas ziploc y refrigerarlas a 4 °C hasta su uso en las pruebas.
- iii) Se preparó suspensiones al 1% de las muestras de tierra en solución salina estéril (0.85%), llevarlas al vórtex por (30, 60, 180, 300 segundos) y diluir la suspensión hasta concentraciones de 10^{-4} y 10^{-5} .

- iv) Con una micropipeta, se tomó 1mL de cada una de las diluciones y se inoculó el contenido en placas Petri con Agar Nutritivo por diseminado. Se realizó la inoculación de cada solución en duplicado
- v) Se incubó las placas Petri a 27 °C por 7 días y, tras el desarrollo de varias colonias, se aisló para obtener cepas puras.

2 Evaluación de la tolerancia de microorganismos a diferentes concentraciones de cadmio (200, 400 y 800ppm)

2.1 Concentración Mínima Inhibitoria y Máxima Tolerable

- a) Para hongos:
 - i) Se inoculó las cepas purificadas en placas con PDA por estriado y dejarlas incubando a 27 °C por 7 días
 - ii) Con una pipeta, se transfirió PDA todavía líquido a una placa de Petri estéril. La cantidad necesaria fue 20ml menos el volumen de la solución preparada de cadmio que especificó la tabla para cada una de las placas.
 - iii) Se tomó discos de agar con micelio del hongo reactivado y se colocó en el centro de las placas Petri con diferentes concentraciones de cadmio y también en una placa con agar libre del metal, el cual sirvió como control.
 - iv) Se incubó a 27 °C por 10 días y se midió el crecimiento radial del hongo de manera diaria.
 - v) Se eligió los hongos más resistentes de acuerdo con las concentraciones máximas tolerables más altas.

Cuadro 1 Esquema de preparación de solución de cadmio

Concentración de Cadmio en placa (ppm)	Solución preparada de Cadmio		
	200 ppm	400 ppm	800 ppm
0.5	0.05 ml		
1	0.1 ml		
2		0.05 ml	
4		0.1 ml	
8			0.05 ml
16			0.1 ml

b) Para bacterias:

- i. Se inoculó las cepas purificadas en placas con Agar Nutritivo por estriado y se dejó incubando a 27 °C por 7 días.
- ii. Con una asada, se tomó colonias de la placa con agar que ha sido incubada y se transfirió a un tubo centrífuga con 5 mL de agua destilada estéril.
- iii. Se lavó la suspensión al vórtex por 15 segundos.
- iv. Se tomó 0,1ml de la suspensión con una micropipeta y se inoculó por diseminación con espátula de Digrafsky en una placa Petri con el agar suplementado con cadmio (se preparó las placas como para los hongos). Se hizo esto para todas las placas con diferentes concentraciones más el control.
- v. Se incubó las placas a 27 °C por 10 días.
- vi. Se eligió las cepas más resistentes de acuerdo con sus CMT

3 Evaluación y selección de cepas con capacidad de bioadsorción de Cadmio superior al 30%:

Las cepas con mayor tolerancia a cadmio fueron sometidas al siguiente protocolo.

- i. En tubos cónicos conteniendo medio de cultivo (TSA para bacterias o YPG para hongos) se añadió solución Cd^{2+} (C_0) 100 mg/L Cd^{2+} + buffer pH 5.0.
- ii. Se inoculó 10 mg PS del microorganismo correspondiente
- iii. Luego se incubó en shaker a 150 rpm por 24 horas
- iv. Culminado el tiempo se procedió a la centrifugación
- v. Se filtró el sobrenadante a 0.22 μm
- vi. Luego se midió en el sobrenadante el cadmio residual
- vii. Finalmente se calculó el porcentaje de remoción mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100$$

4 Formulación y evaluación de consorcios microbianos para la adsorción de cadmio

Del ensayo anterior se seleccionaron las cepas con mayor porcentaje de remoción de cadmio de cada uno de los grupos microbianos y se formularán 3 combinaciones diferentes para constituir tres consorcios microbianos para los ensayos posteriores.

Previo a las formulaciones definitivas, los microorganismos seleccionados se someterán a pruebas para descartar posibles interacciones negativas.

4.1. Pruebas de Antagonismo

4.1.2. Prueba para bacterias

Para comenzar con las pruebas de antagonismo en bacterias es fundamental conocer el tipo y tiempo de crecimiento de los microorganismos a usar en agar TSA. Por lo que se evaluaron estas condiciones mediante el método de placa estriada. Ya conocidos los parámetros se pudo comenzar con las pruebas de antagonismo.

i) Prueba 1: Difusión en agar.

Como primer paso se cultivó la cepa "A" en caldo LB/tripticase de soya ajustado a la escala 0.5 de McFarland. Para la preparación de este inóculo se tomaron de 3-5 colonias, estas se sembraron en 4-5 ml del caldo, se incubó a 27° C por 2-6 horas y se midió que la turbidez sea igual al estándar de McFarland. Al tener listo el inóculo, previamente se preparó caldo TSA, ya que a este al estar casi a punto de solidificar se le agregó el preparado; luego se distribuyó en placas petri. Luego de esto, a cada placa petri se les hizo 4 pocillos con un sacabocados. En los pocillos realizados se vertieron 40 uL de la otra bacteria con la cual se está analizando el antagonismo. Finalmente, las placas se incubaron a 27°C por 24 horas, evaluando los resultados.

a) Prueba para hongos.

Para comenzar con las pruebas de antagonismo en hongos fue fundamental conocer el tipo y tiempo de crecimiento de los microorganismos a usar en agar papa dextrosa. Por lo que se evaluaron estas condiciones mediante el método de siembra directa o punción central. Ya conocidos los parámetros se pudo comenzar con las pruebas de antagonismo.

Prueba 1: Cultivos duales

La técnica consistió en agregar a una placa estéril el medio PDA donde se inocularán aproximadamente 4 mm de micelio activo de un microorganismo en un extremo y en el contrario 4mm del otro microorganismo. Luego se incubó a 27°C, el tiempo de incubación dependió de la velocidad de crecimiento.

Prueba 2: Técnica de Ridell.

La técnica consistió en colocar dentro de una placa Petri una varilla de vidrio en forma de "V" y sobre esta un portaobjetos estéril, sobre el cual se colocó un disco de PDA, el cual fue obtenido con un sacabocados o recortado con un bisturí estéril. Para el enfrentamiento de los hongos, estos se inocularon en posiciones opuestas, teniendo en cuenta el tiempo de crecimiento. Inmediatamente después de inocular ambos hongos, con ayuda de una pinza estéril se colocó un cubreobjeto estéril. Para mantener humedad se adicionó 10 mL de glicerol al 10% en la placa Petri. Luego se incubó a 27° C hasta observar el crecimiento de ambos microorganismos. Finalizada esa etapa el glicerol es reemplazado por formaldehído al 10% por dos horas con el fin de fijar las estructuras fúngicas. Posteriormente, el cubreobjetos se colocó sobre una laminilla estéril con una gota de azul de lactofenol. El disco de agar se colocó sobre una laminilla estéril con junto al colorante. Para evaluar los resultados, ambas laminillas se evaluaron al microscopio óptico.

3.2 Diseño de soporte inorgánico

Paralelamente se diseñó el soporte inorgánico, por servicio, a partir de dolomita, zeolita, humus, arena, carbón activado y adhesivo mineral, por ser materia con capacidad demostrada de adsorción de cadmio.

Tipos de diseño:

Cilindro cónica, para facilitar su introducción en la rizósfera de las plantas de cacao; así como para su retiro.

Esféricas, para evaluar el radio de adsorción.

También se evaluaron en los soportes la textura estratificada y porosa lograda que favorezca el establecimiento del consorcio microbiano y por consiguiente su inmovilización celular.

3.3 Inmovilización celular del consorcio

Los soportes inorgánicos fueron introducidos en el biorreactor conteniendo un medio nutritivo común para la multiplicación del

consorcio microbiano, se inocularon los microorganismos y se le proporcionó las condiciones, determinadas previamente en el biorreactor Applikon, para que los microorganismos se multipliquen y colonicen el soporte inorgánico durante 48 horas. El desarrollo de biopelículas sobre el soporte fue el indicador del establecimiento, inmovilización y compatibilidad con el consorcio.

Parámetros iniciales para probar:

- Temperatura 28°C
- PH 6.5
- Agitación 120 rpm
- O₂ disuelto 20%
- Aireación 1VVM
- Tiempo 48 h

Los parámetros se variaron en función a los microorganismos seleccionados.

5 Evaluación de la biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio

4.1 *Instalación de Viveros*

Los experimentos se realizaron en la misma zona donde se cultiva el cacao y se utilizarán los viveros de la cooperativa de productores Santa Rosa de Chiriari, ubicado en Mazamari. Junín.

4.2 *Evaluación del consorcio en viveros*

4.2.1. *Germinación de las semillas*

Con ayuda de los mismos agricultores se escogieron los frutos del cacao para luego seleccionar las semillas que entraron en el proceso de germinación.

Se lavó las semillas para retirar el mucílago (una sustancia viscosa que puede causar hongos). frotándolas con aserrín o arena y luego se lavaron.

Se remojó las semillas en agua limpia durante 24 horas para activar la germinación y se colocaron en pequeños semilleros con un sustrato nutritivo, esponjoso, bien aireado y con buen drenaje.

Los semilleros se cubrieron con film transparente y se colocaron sobre una estera de germinación para mantener una temperatura de 27°C. se aseguró una alta humedad y proporcionó sombra al semillero durante 10 días que debería ocurrir la germinación.

4.3 *Evaluación del consorcio en viveros*

4.2.2. *Evaluación en viveros Determinación de Cadmio inicial*

Una vez preparado el sustrato para la germinación de las semillas, se tomaron muestras representativas para analizar el contenido de cadmio inicial. Los mismos que se realizaron por servicio en laboratorios certificados de la ciudad de Lima.

4.2.3. *Instalación y evaluación del consorcio*

Inmediatamente por debajo de la zona donde serán colocadas las semillas germinadas, se ubicaron los consorcios inmovilizados. Para cada consorcio microbiano inmovilizado se consideró 25 repeticiones, al igual que para el control, haciendo un total de 100 plantaciones en vivero. Para los controles las siembras se realizaron sin la incorporación de los consorcios.

Luego de 60 días de crecimiento, cuando las nuevas plántulas ya deben ser trasplantadas, se tomaron cada una de las plantas de cacao para analizar el contenido de cadmio y comparar con los controles. La determinación de cadmio en plantas se realizó a través de técnicas analítica de espectroscopia de absorción atómica (AAS).

4.2.4. *Análisis e interpretación de la información*

Los resultados encontrados fueron sometidos a análisis estadísticos para demostrar significancia en la remoción de cadmio del suelo y la diferencia significativa en la actividad de los sistemas microbianos ensayados.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados

4.1.1 Aislamiento de microorganismos

Se lograron aislar en total 237 microorganismos; de los cuales son 104 bacterias, 118 hongos y 15 actinomicetos

Cuadro 2 Microorganismos aislados de suelos cacaoteros de la selva central

BACTERIA			FUNGI			ACTINOS
AN1	AP1B4	MP5T2	HK1	TP1H11	F2E1A	AP2A1
AN2	AP1B5	CMP1B1	HK2	TP1H12	F2E1B	CMP1A3
AN3	AP1B6	CMP1B2	HK3	TP1H13	F2H1	CMP1A2
AN4	AP1B7	CMP1B3	HK4	TP1H14	F15	CMP1A1
AN5	AP1B8	CMP1B4	HK5	TP1H16	F2H2	TP3A1
AN6	AP1B9	CMP1B5	HK6	TP1L1	J2E2	MP2A1
AN7	AP1B10	CMP1B6	HK7	TP1L2	JH1	MP2A2
PS1	AP1B11	CMP2B1	FC1	TP2H1	JH5	MP2A3
NH7	AP1B12	CMP2B2	FC2	TP2H2	JH4	MP2A4
NH8	AP2B1	CMP2B3	FC3	TP2H3	FH1	MP2A5

NH9	AP2B2	CMP2B4	H1	TP2H12	FH2	MP3A1
NH10	AP2B3	CMP2B5	H2	TP2L1	FH2	MZ1A3
NH11	AP2B4	CMP3B1	H3	TP3H1	F2S	MZ1A4
NH12	AP2B5	CMP3B2	H4	TP3H5	JH3	MZ1A5
BP1	AP2B6	CMP3B3	H5	TP3H7	J2E1	MZ1A6
BP2	AP3B1	CMP3B4	H6	TP3H8	FD2	
BP3	AP3B2	CMP3B5	H7	TP3H10	FH3	
BP4	AP3B3	CMP4B1	MP1L1	TP3H11	JH2	
HAN6	AP3B4	CMP4B2	MP1L2	TP3H12	CH1	
HAN7	AP3B5	CMP4B3	MP4L1	TP4L1	SFD1	
HAN8	AP3B6	CMP4B4	AP1H1	TP4L2		
HAN9	AP3B7	TP1B3	AP1H2	TP4H1		
HAN10	AP3B8	TP3B1	AP1L1	TP4H4		
HAN11	AP3B9	TP3B2	AP1L2	TP4H5		
HAN12	AP3B10	TP4B1	AP1L3	TP4H6		
HAN13	MP1B1	TP4B2	CMP1H1	AP2H1		
HAN14	MP1B2	TP4B3	CMP1H2	AP2H2		
TK1	MP1B3	AP3T1	CMP1H3	AP2H3		
TK2	MP1B4	AP3T2	CMP1L1	AP2H4		
TK3	MP1B5	AP3T3	CMP5H1	AP2H5		
TK4	MP2B2	MP3T1	CMP2H1	MP1H2		
TK5	MP2B4	MP3T2	CMP4H1	MP5H1		

TK6	MP2B5	MP3T3	TP1H1	MP3H1		
TK7	MP3B1	MP4T1	TP1H2	MP3H2		
TK8	MP3B2	MP5T1	TP1H3	MP4H3		
TK9	MP3B3	MP4B1	TP1H4	MP4H4		
TK10	MP3B4	MP4B2	TP1H5	MP4H5		
AP1B1	MP3B5	MP4B3	TP1H8	MP4H6		
AP1B2	MP3B6	MP4B4	TP1H9	F2L1		
AP1B3	MP3B7		TP1H10	F2L2		

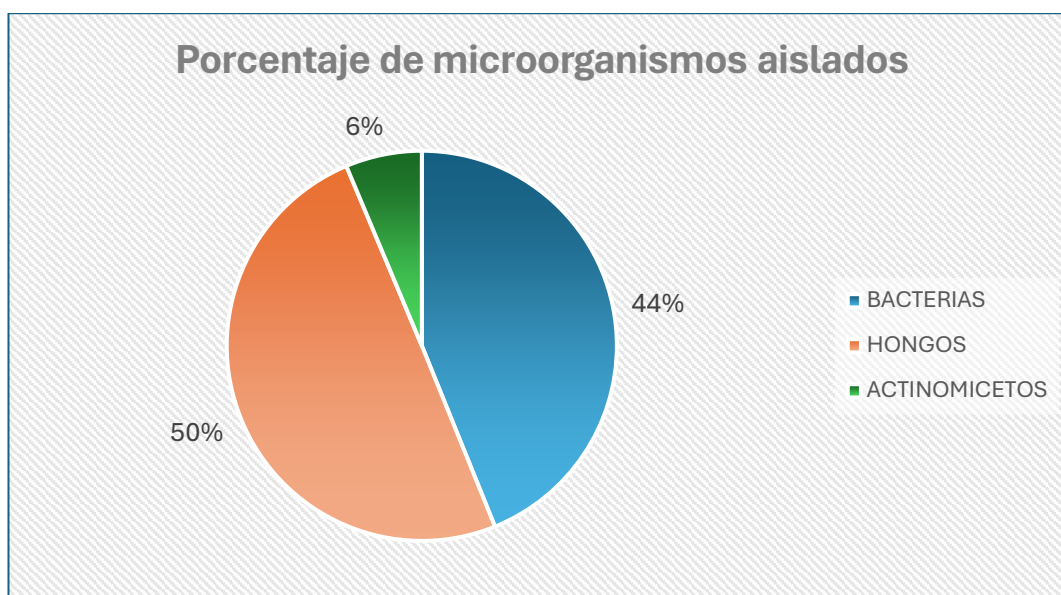


Gráfico 1 Porcentaje de microorganismos aislados de suelos contaminados con cadmio

4.1.2 Evaluación de la capacidad de tolerancia de microorganismos aislados a diferentes concentraciones de cadmio.

Cuadro 3 Relación de microorganismos tolerantes a una concentración de 200ppm de Cadmio.

MICROORGANISMOS	Cepas positivas a 200 ppm		
BACTERIAS	PS1	MP1B1	MP4T1
	HAN6	MP1B4	AP1B4
	TP4B3	MP1B5	AP2B2
	TP5B2	MP2B4	AP2B3
	CMP1B2	MP3B2	AP3B3
	CMP1B3	MP3B3	AP3B5
	CMP1B6	MP3B4	AP3B6
	CMP3B1	MP4B1	AP3B7
	CMP4B2	MP4B3	AP3B9
HONGOS	SD	TP2H5	J2E2
	TK3	AP1H2	F2H1
	HK2	AP3H1	F2H2
	HK5	AP3H2	F1S
	HK6	AP3H4	F1E
	HC	MP4H1	C2
	H2	JH3	TP3L1
	H3	JH5	MP1H1
	TP2H2	J2E1	H1

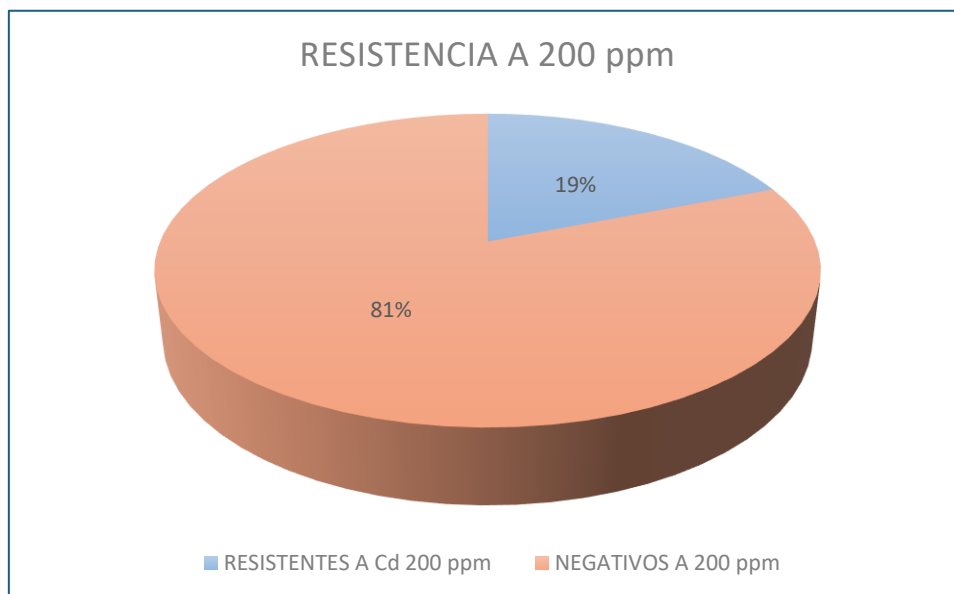


Gráfico 2 Representación de los microorganismos que muestran resistencia a 200 ppm.

Evaluación de la concentración mínima letal

Se evaluaron las cepas seleccionadas a concentraciones de cadmio de 200 ppm, 400 ppm y 800 ppm.

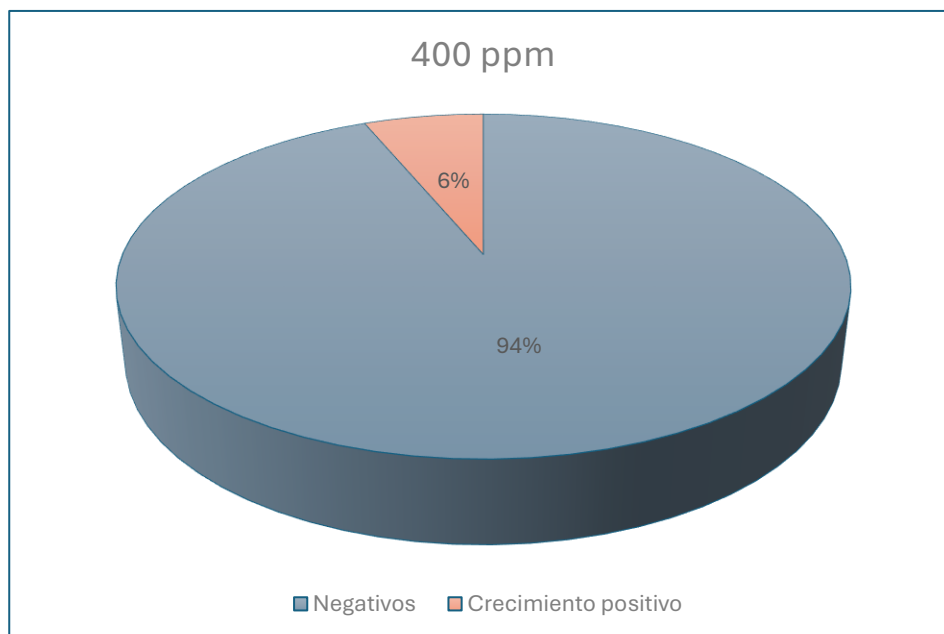


Gráfico 3 Representación de las bacterias que muestran resistencia a 400 ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.

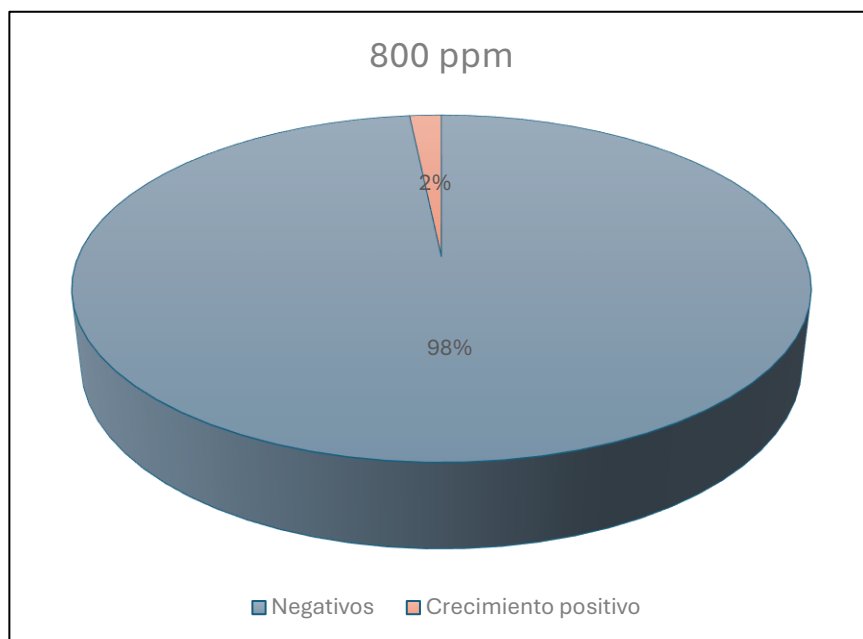


Gráfico 4 Representación de las bacterias que muestran resistencia a 800ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.

4.1.3 Evaluación de crecimiento de microorganismos a diferentes concentraciones de cadmio.

Cuadro 4 Medidas de los diámetros de las colonias bacterianas en milímetros

	Código	Control	200 ppm	400 ppm	800 ppm
1	PS1	8	5	-	-
2	HAN6	14	2	-	-
3	TP4B3	11	1	-	-
4	TP5B2	16	3	-	-
5	CMP1B2	10	2	-	-
6	CMP1B3	7	3	2	-
7	CMP1B6	9	3	-	-
8	CMP3B1	1	1	-	-
9	CMP4B2	7	3	-	-
10	MP1B1	3	2	-	-

11	MP1B4	6	4	-	-
12	MP1B5	9	2	-	-
13	MP2B1	5	2	-	-
14	MP3B2	5.5	4	2.5	-
15	MP3B3	7	3	-	-
16	MP2B12	5	5	4	4
17	MP4B1	7	2	-	-
18	MP4B3	12	2	-	-
19	MP4T1	6	3	-	-
20	AP1B4	6	3	3	-
21	AP2B2	7	1	-	-
22	AP2B3	9	2	-	-
23	MP2A2	7.5	7	4	3.5
24	AP3B5	6	5	3	-
25	AP3B6	6	4	3.5	-
26	AP3B7	7	3	2.5	-
27	AP3B9	9	3	-	-

Cuadro 5 Medidas de los diámetros de las colonias fúngicas en milímetros.

Código	Control	200 ppm	400 ppm	800 ppm
SD	6.00	2.00	-	-
TK3	7.00	5.00	3.00	-
HK2	18.20	13.67	12.67	8.33
HK5	16.30	11.17	7.33	7.33
HK6	16.40	9.17	9.00	14.50
HC	16.10	15.00	8.00	-

H2	17.50	11.83	10.33	8.67
H3	22.70	16.00	10.33	6.50
TP2H2	32.56	13.50	10.67	8.33
TP2H5	80.00	56.00	23.00	-
AP1H2	42.00	9.00	-	-
AP3H1	22.31	14.17	13.50	9.83
AP3H2	32.10	15.67	9.17	9.33
AP3H4	17.60	13.17	12.67	8.67
MP4H1	34.20	16.67	13.00	13.00
JH3	39.40	27.50	14.17	10.17
J2E1	37.60	21.00	10.83	8.67
J2E2	34.20	26.83	15.33	13.33
F2H1	42.00	18.00	12.67	8.33
F2H2	37.20	22.50	13.67	8.33
F1S	36.30	21.33	10.67	-
F1E	38.00	12.50	11.00	-
C2	42.20	14.20	-	-
TP3L1	5.00	3.00	-	-
MP1H1	10.00	7.00	5.00	-
H1	15.00	6.00	6.00	2.00

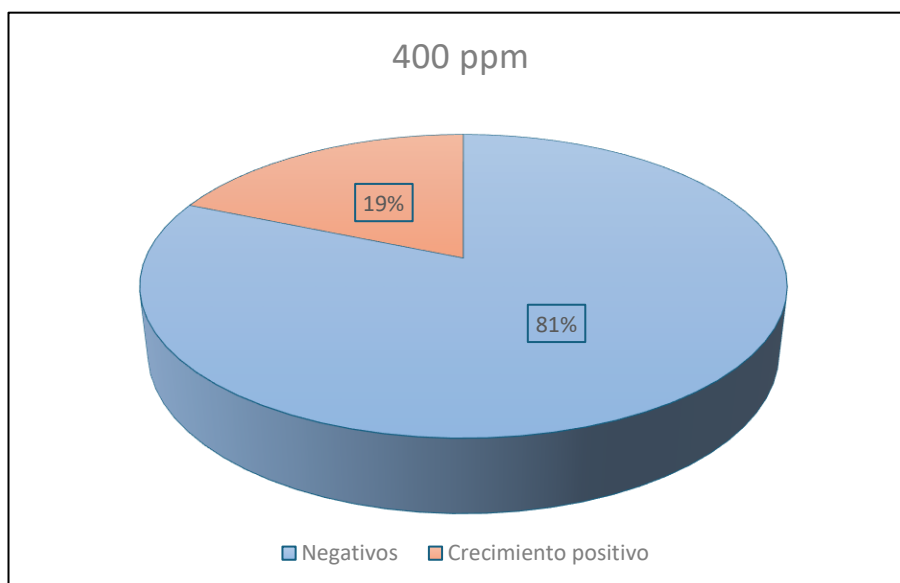


Gráfico 5 Representación de los hongos que muestran resistencia a 400 ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.

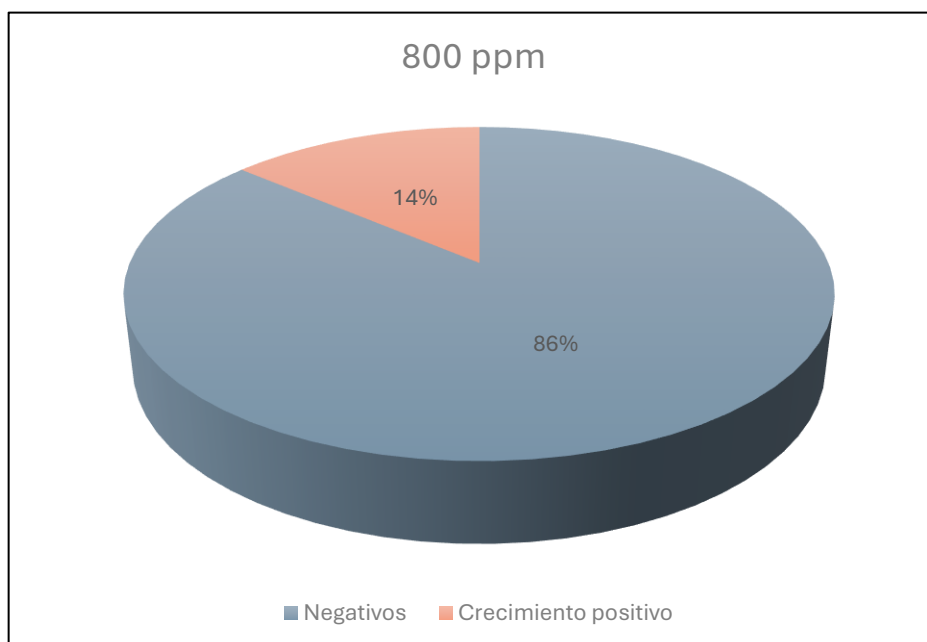


Gráfico 6 Representación de los hongos que muestran resistencia a 800ppm, con respecto a los positivos a 200ppm.



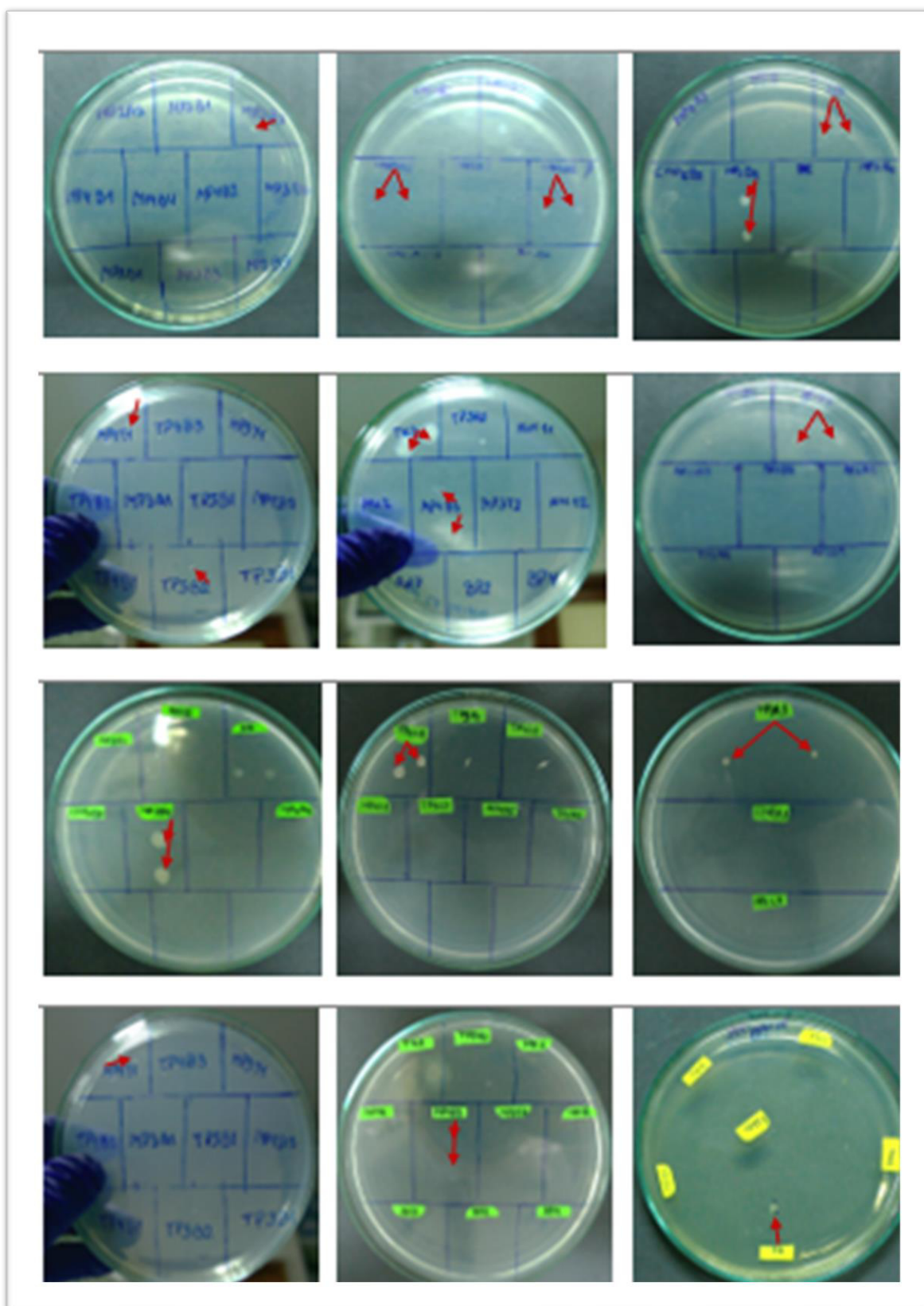


Figura 2. b Cepas de bacterias y Levaduras positivas a una concentración de 200ppm de Cadmio

4.1.5 Macrocultivo, microcultivo y evaluación de tolerancia a 200, 400 y 800 ppm de cadmio.

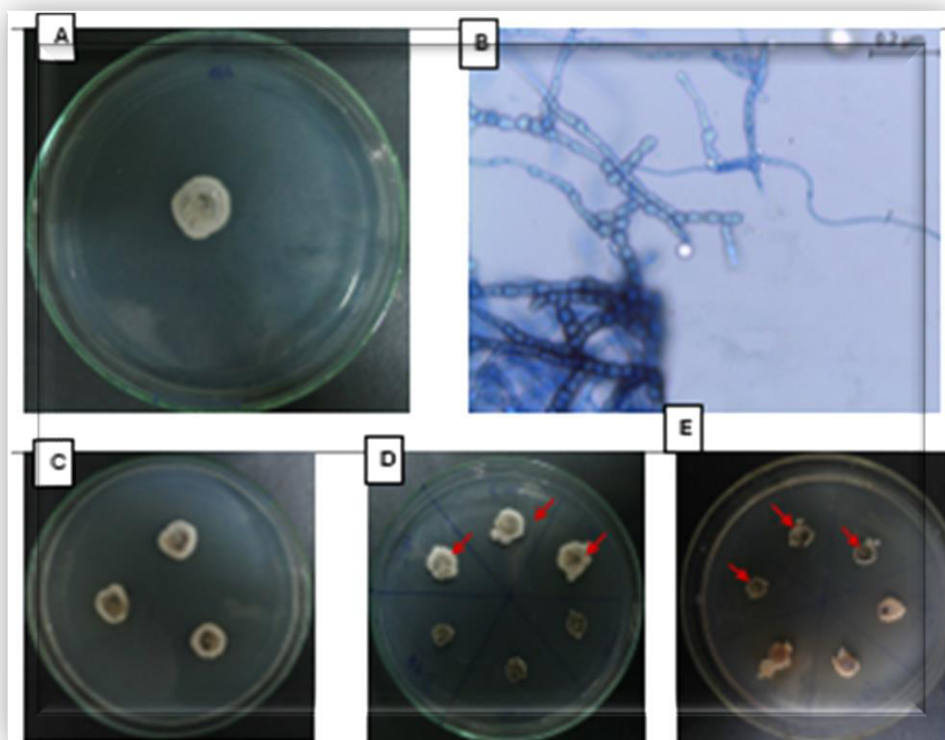


Figura 3. Ceba HK2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

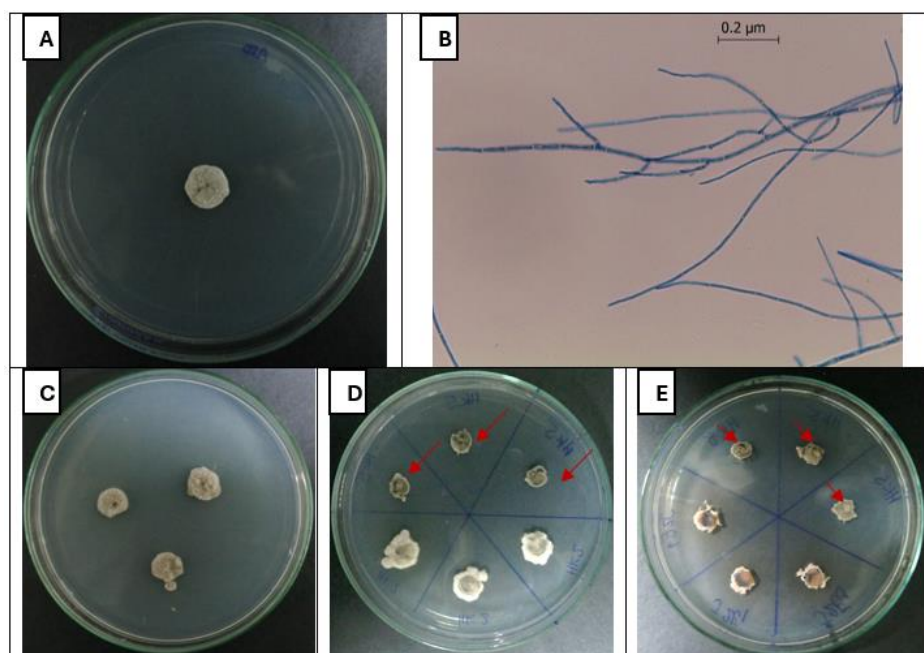


Figura 4. Ceba HK5. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

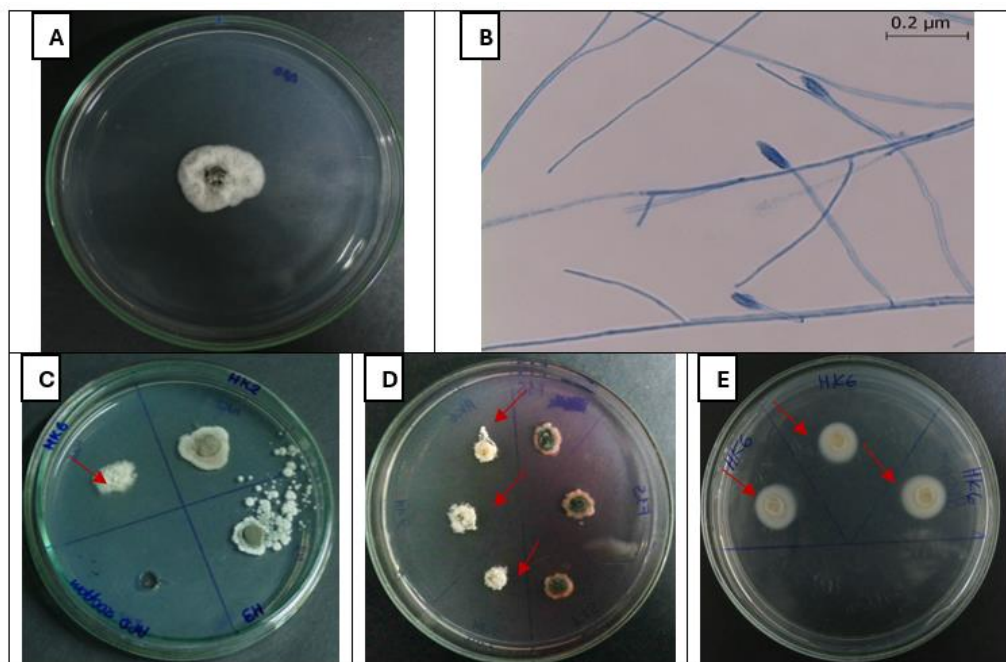


Figura 5. Cera HK6. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

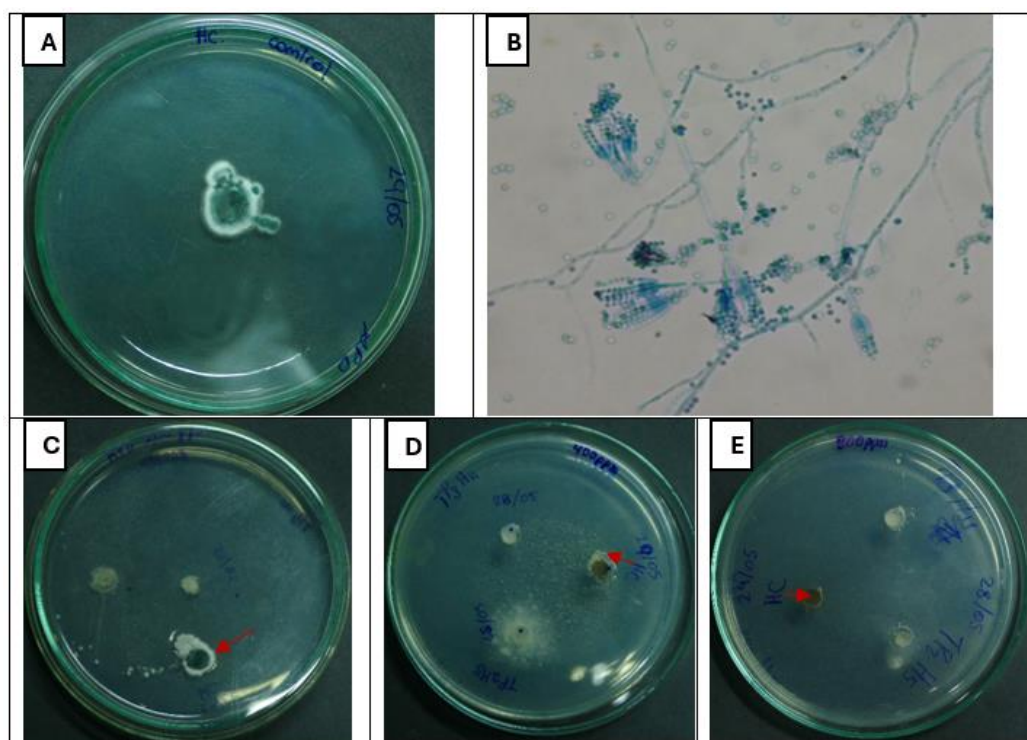


Figura 6. Cera HC. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

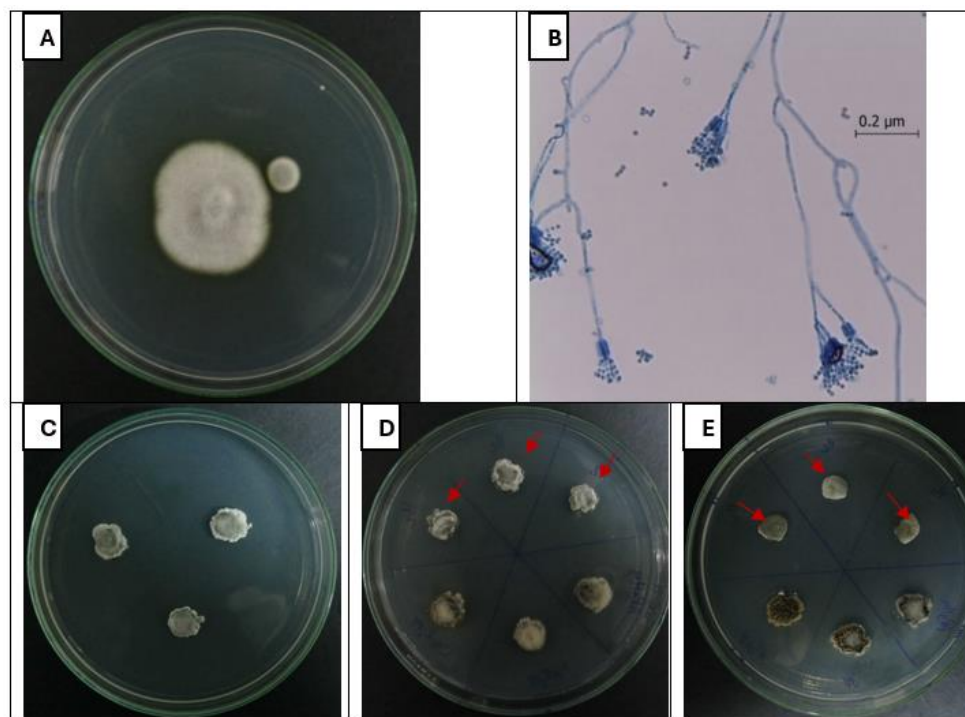


Figura 7. Cepas H3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

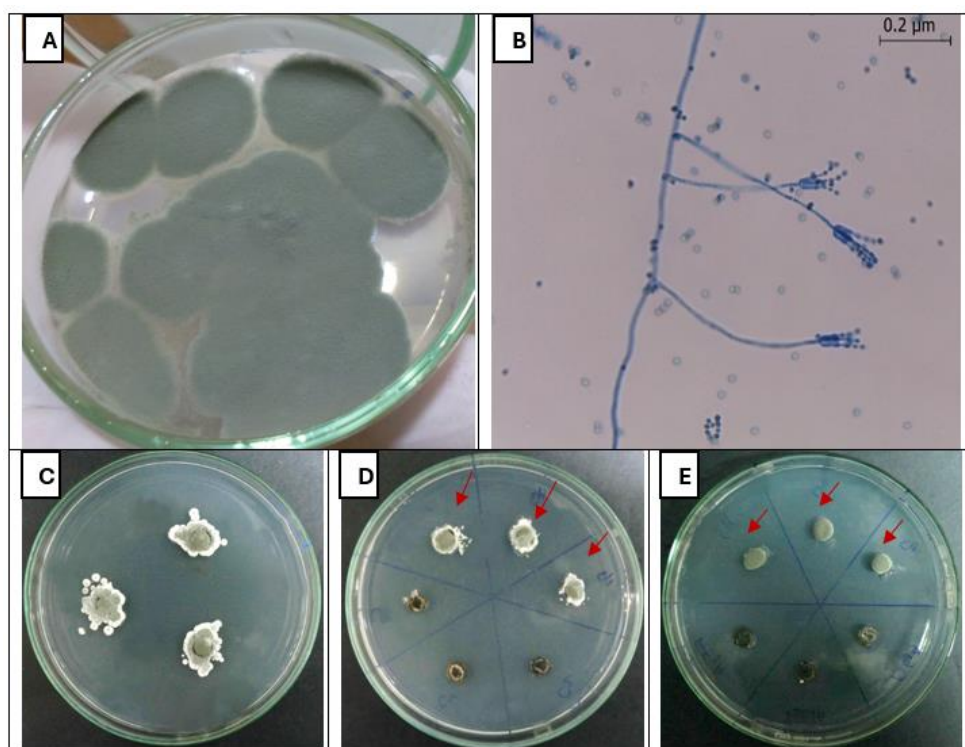


Figura 8. Cepas H3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

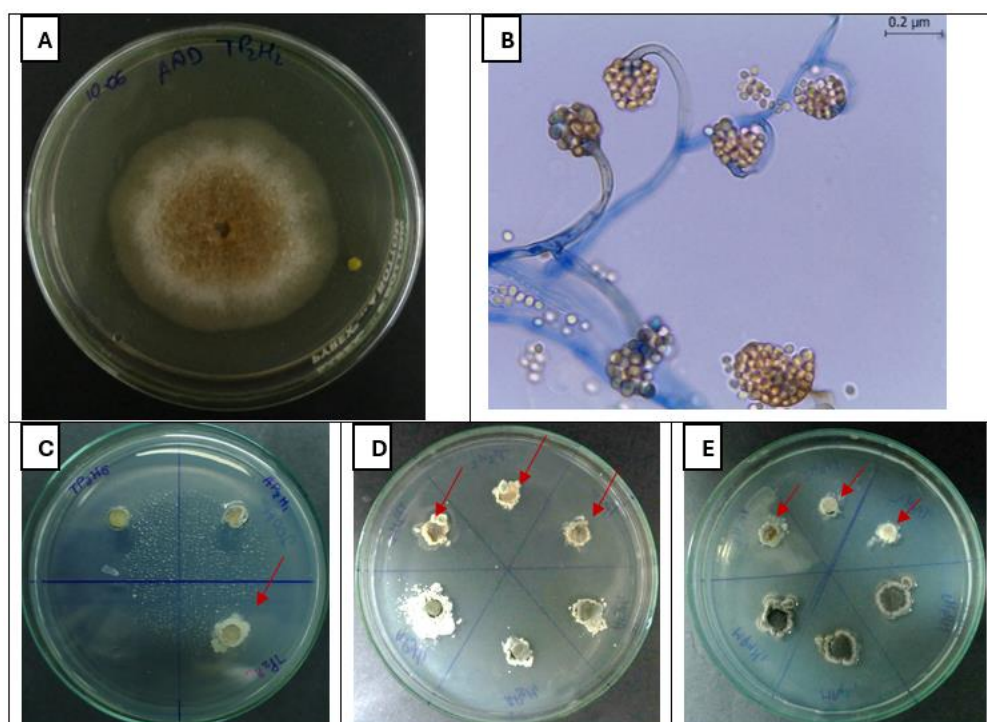


Figura 9. Cepas TP2H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

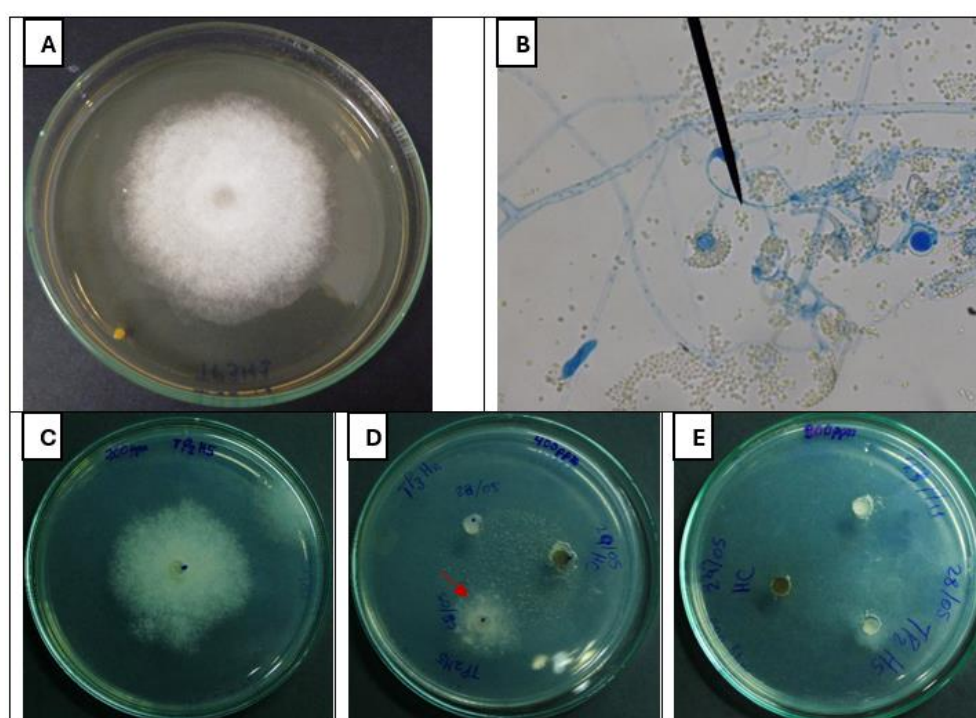


Figura 10. Cepas TP2H5. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

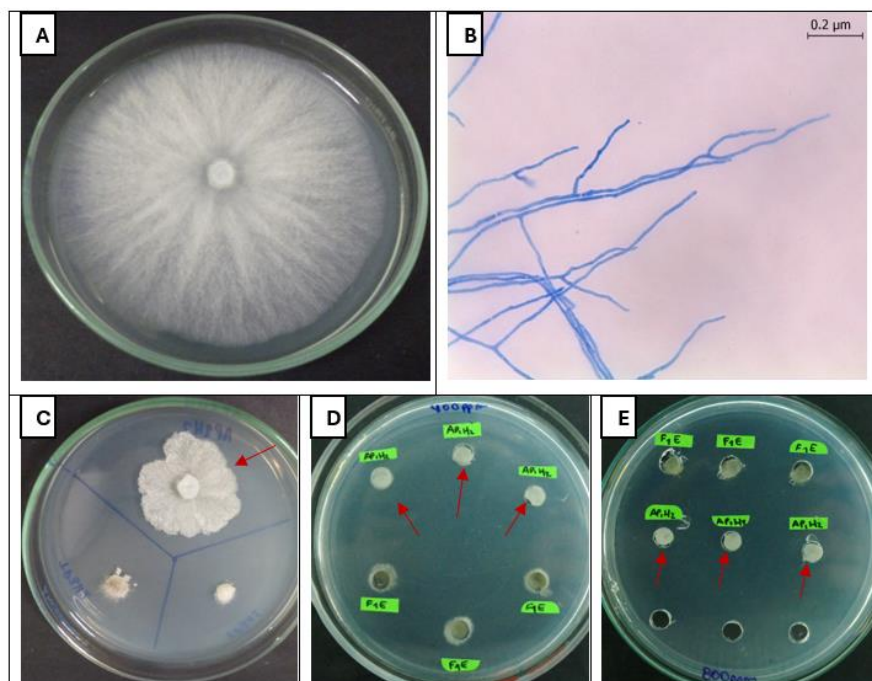


Figura 11. Ceba AP1H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

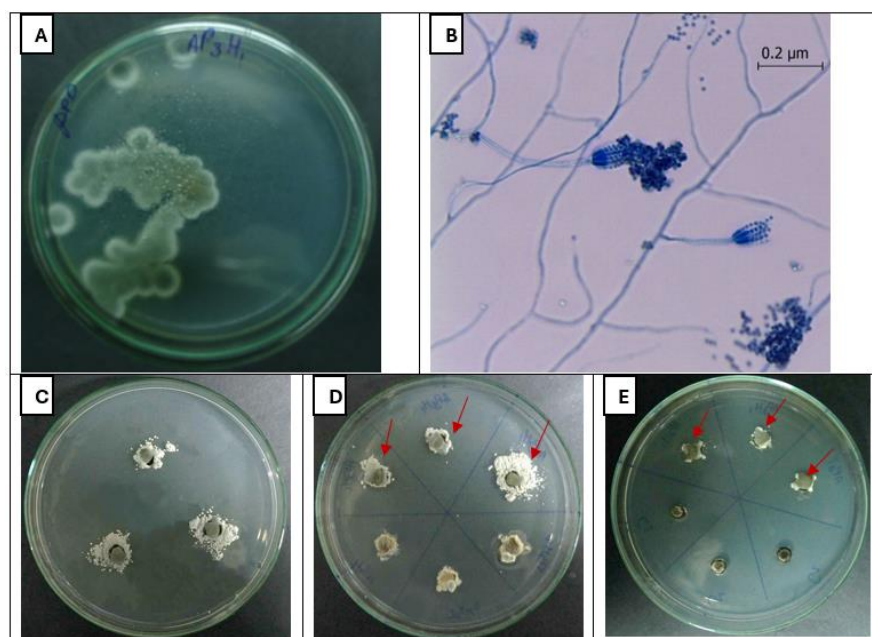


Figura 12. Ceba AP3H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

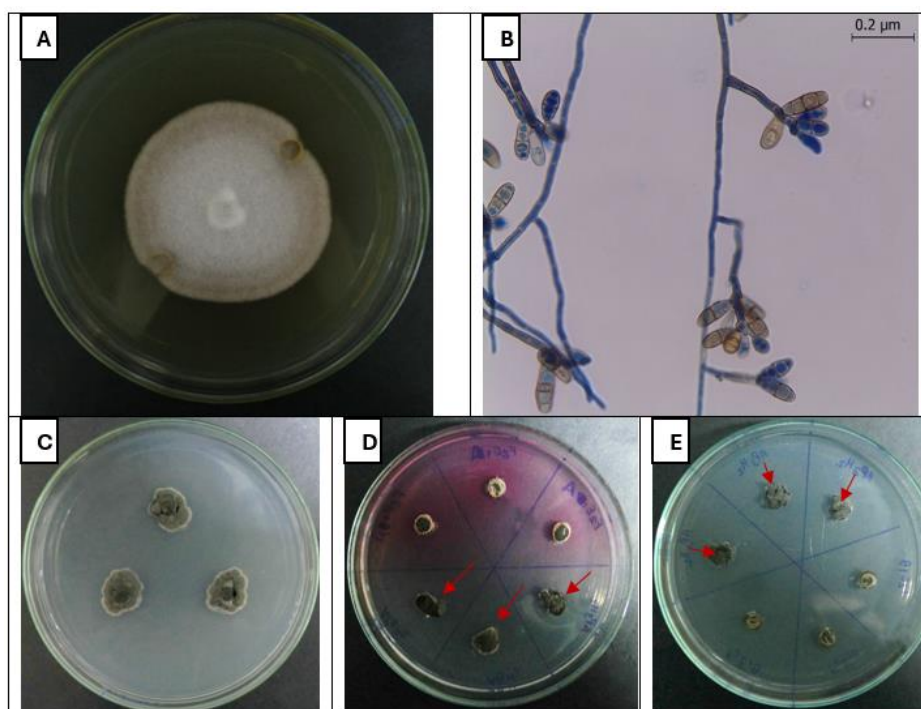


Figura 14. Cepas AP3H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

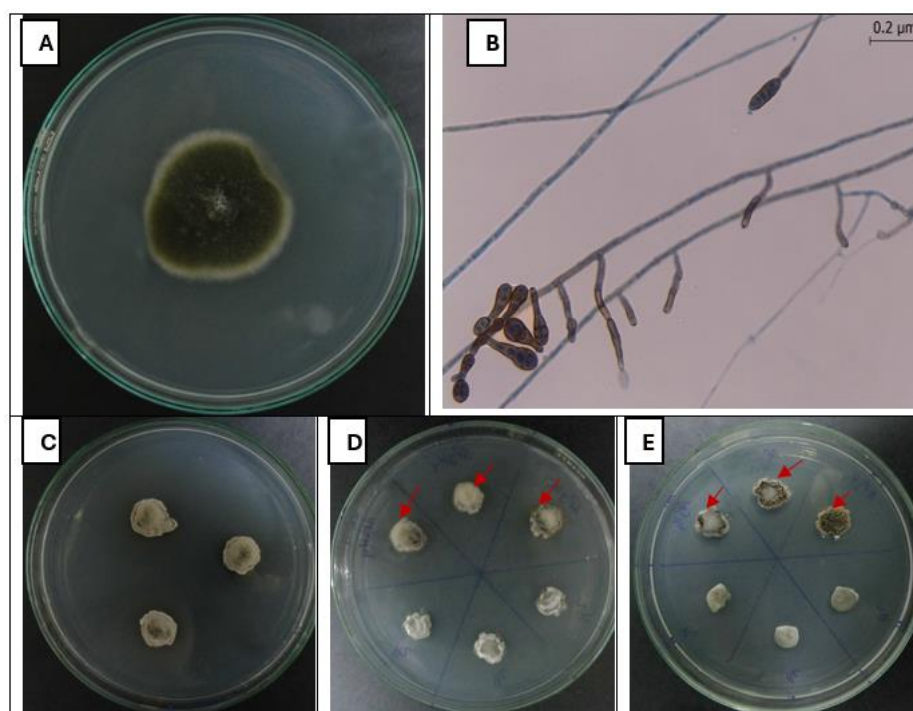


Figura 13. Cepas AP3H4. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

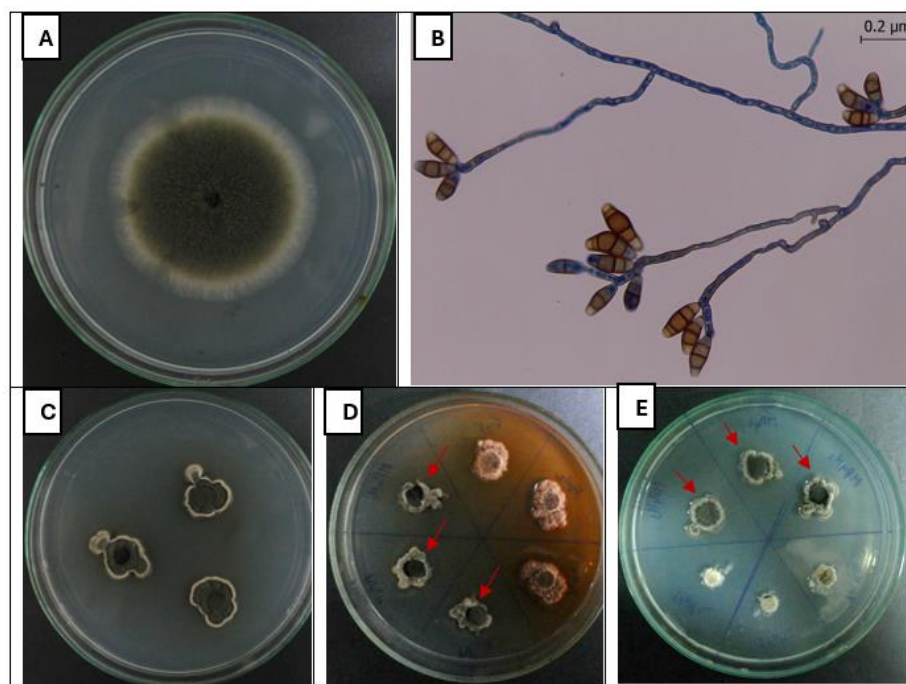


Figura 16. Cepas MP4H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

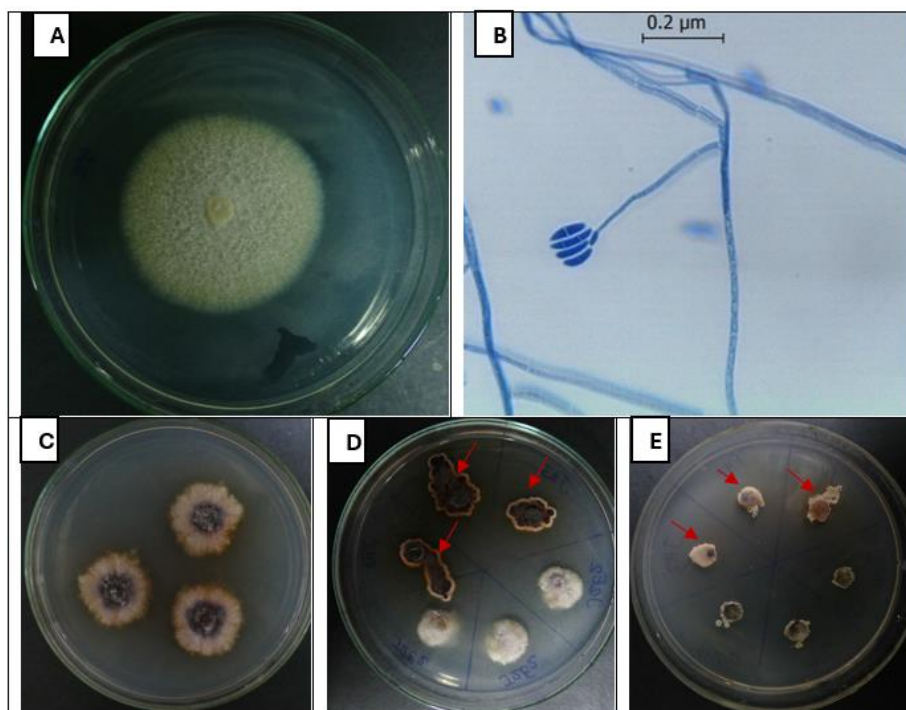


Figura 15. Cepas JH3. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

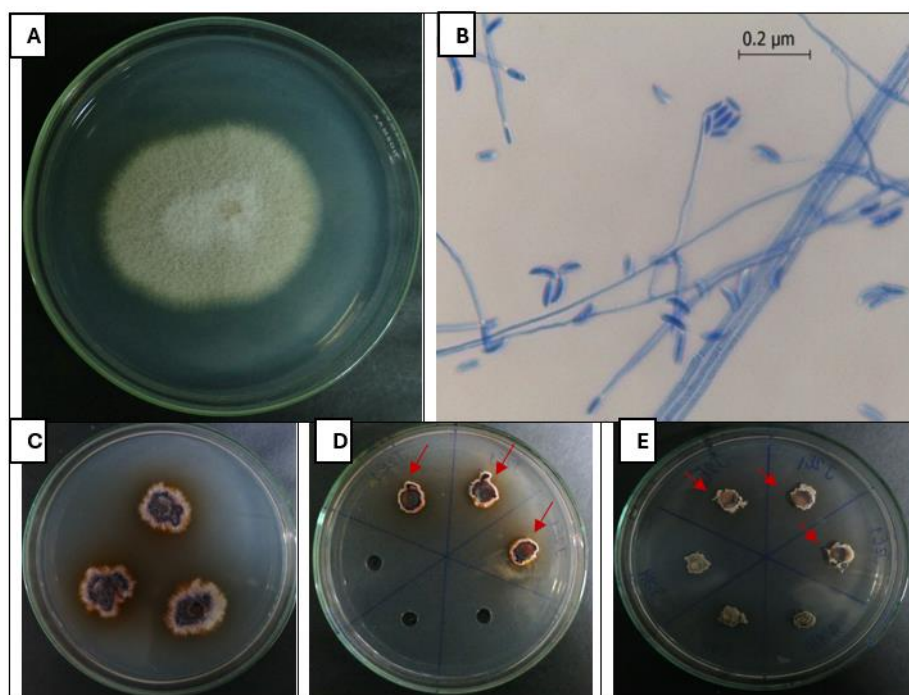


Figura 18. Cepa J2E1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

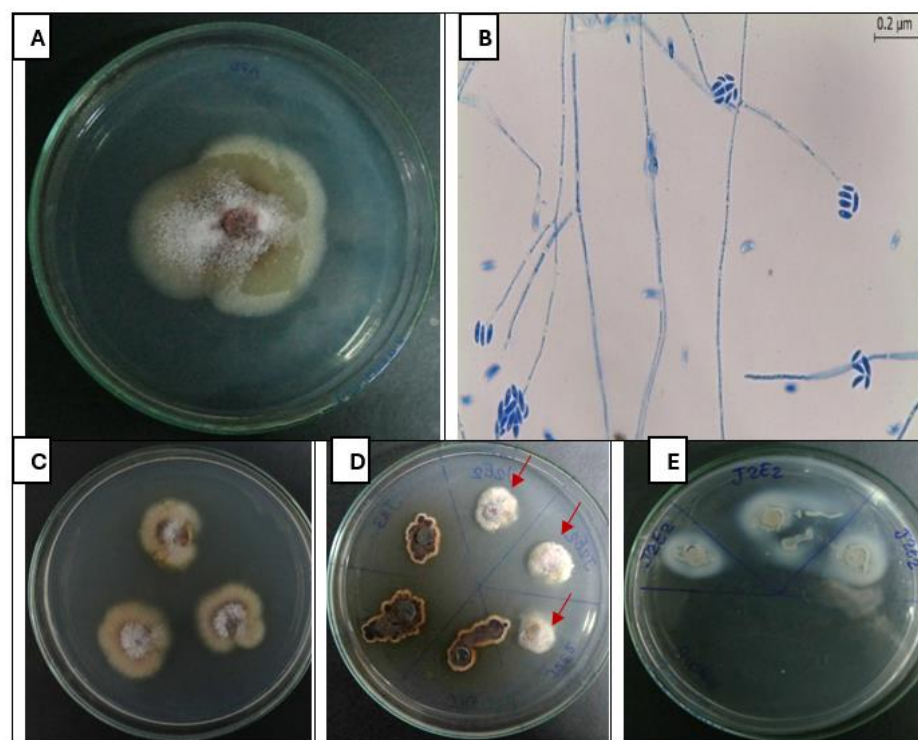


Figura 17. Cepa J2E2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

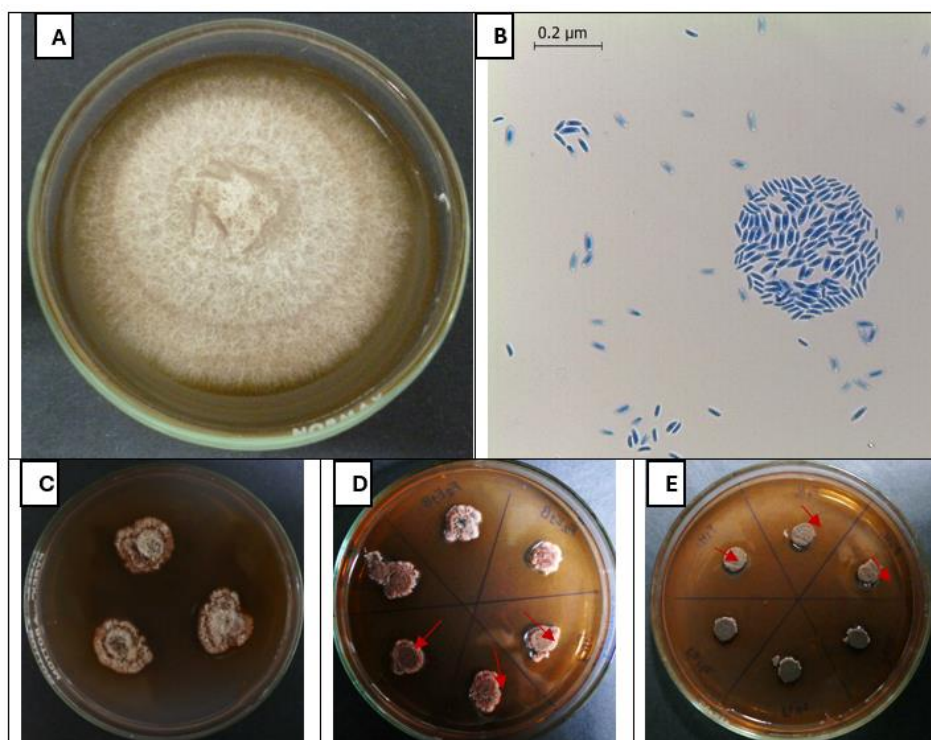


Figura 19. Cepas F2H1. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

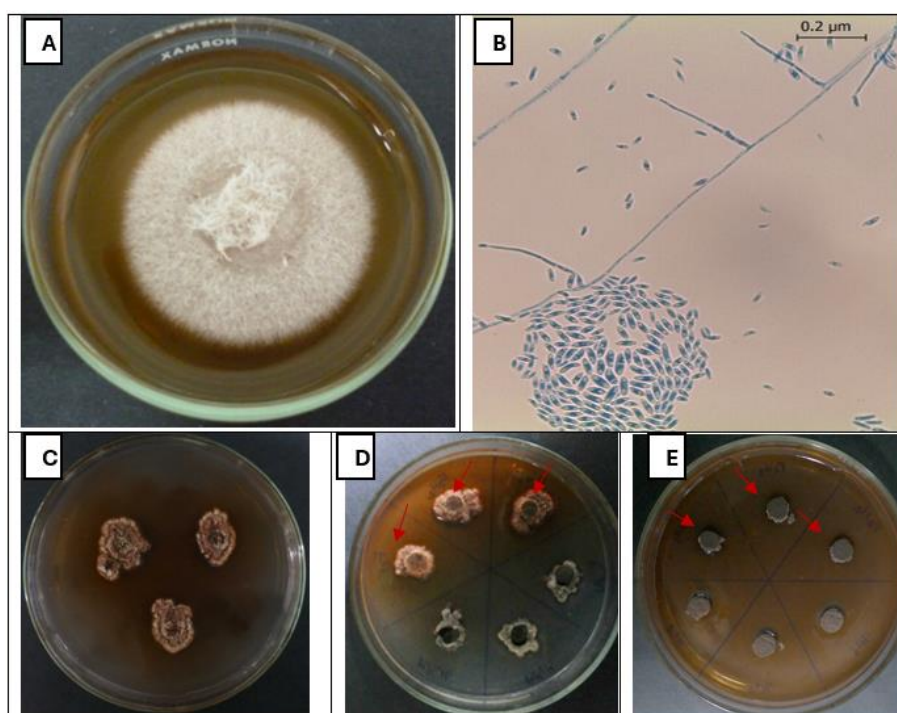


Figura 20. Cepas F2H2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

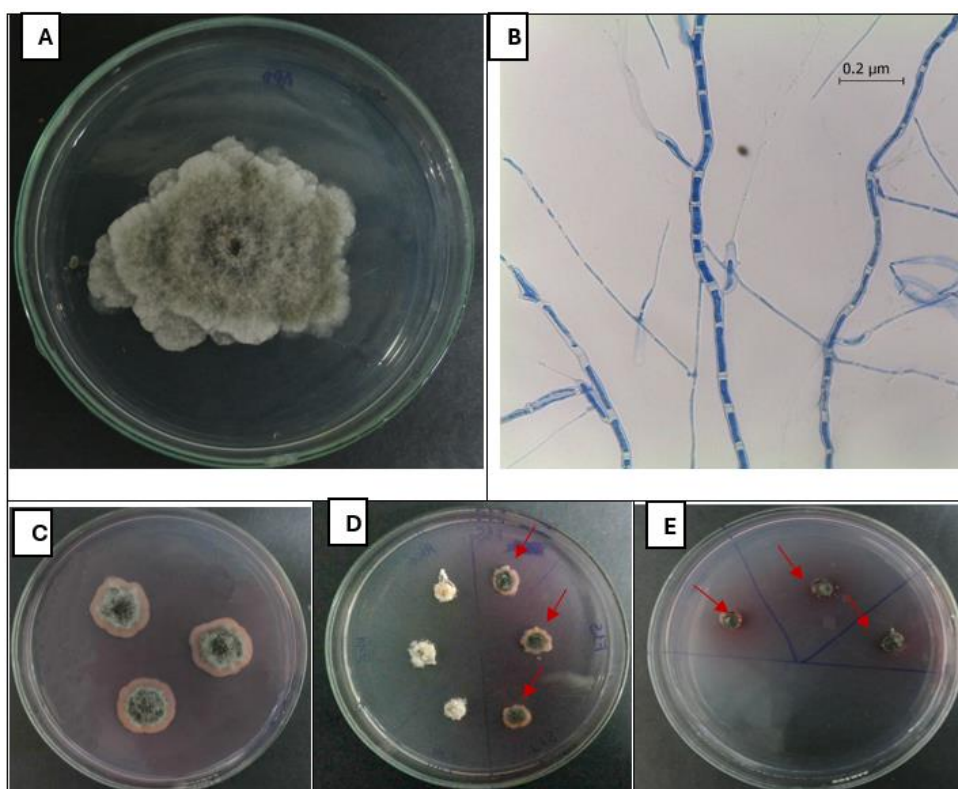


Figura 22. Cepa F1S. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

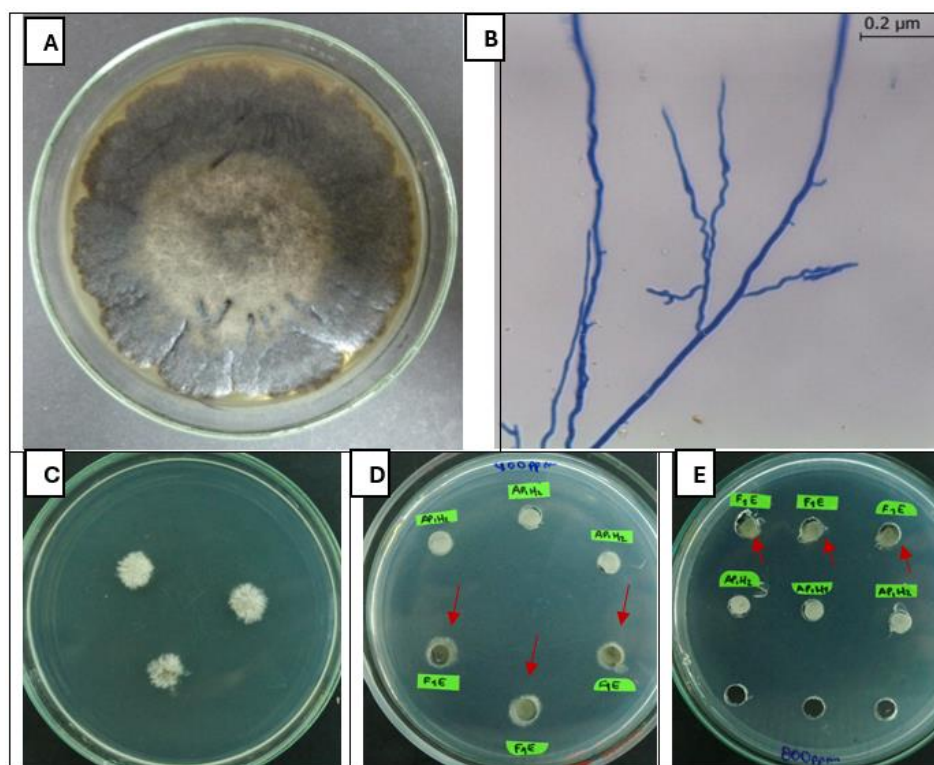


Figura 21. Cepa F1E. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

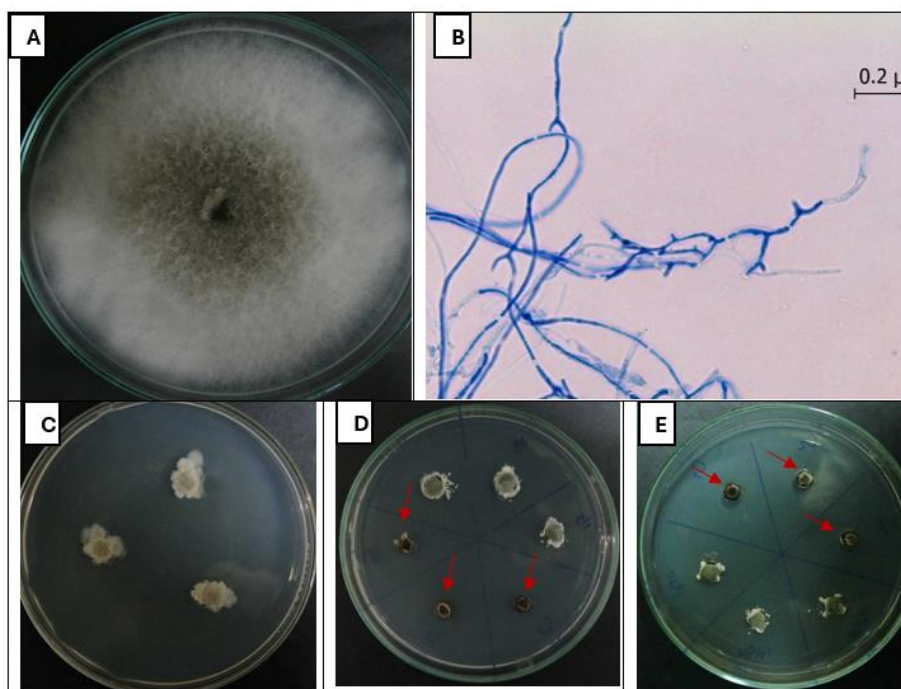


Figura 23. Cepas C2. A: control en medio APD; B: microcultivo; C: colonia a 200, D: 400 y E: 800 ppm de Cd.

4.1.3 Selección de microorganismos con mayor capacidad de adsorción de cadmio

Cuadro 6 Microorganismos seleccionados, por cada grupo, con capacidad de adsorción por encima de 30%

GRUPO MICROBIANO	AISLAMIENTOS	TOLERANCIA A CADMIO	CAPACIDAD DE ADSORCIÓN (+ de 30%)
BACTERIAS	104	28	18
HONGOS	118	31	16
ACTINOMICETOS	15	3	2

4.1.4 Formulación del consorcio microbiano

Cuadro 7 *Microorganismos con mayor capacidad de biosorción de cadmio*

CONSORCIO Integrantes	GRUPO MICROBIANO	PROCEDENCIA
MP2B12	Bacillus	CSRC
HK6	Trichoderma	CSRC
MP2A2	Streptomices	CSRC

Cuadro 8 *Consortios microbianos establecidos para los experimentos de biorremediación*

CONSORCIOS	GRUPOS MICROBIANOS	ANTAGONISMO
A	MP2B12 - B48 - HK6	MEDIANO
B	MP2A2 - HK6 - MP2B12	BAJO
C	B48 - HK6 - MP2A2	NULO

4.1.5 Evaluación de la biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio

Cuadro 9 *Análisis del contenido de cadmio total en las plantas de cacao luego de 2 meses de crecimiento inoculados con el consorcio microbiano, en comparación con el control no inoculado*

	Experimental A	Experimental B	Experimental C	Control
Contenido de cadmio total en las plántulas de cacao (ppm)	8,33	5,3	4,85	14,4
	9,15	4,85	5,15	14,9
	7,95	4,35	5,99	13,4
	8,45	5,2	4,95	14,6
	8,64	5,54	5,42	13,8
	9,82	5,32	5,13	13,4
	8,64	4,52	4,87	14,5
	8,15	4,82	5,31	14,8
	9,99	4,82	5,14	15,1
	9,25	4,31	4,6	14,9
	9,45	5,14	5,35	14,6
	8	4,36	5,6	14,2
	7,99	5,84	4,68	15,2
	8,16	5,62	5,34	14,8
	8,34	5,47	5,28	14,3
	9,5	4,95	5,15	13,5

	9,5	4,31	4,62	14,9
	7,86	5,64	5,46	14,7
	8,75	5,82	4,88	13,2
	10,38	5,36	5,47	14,8
	9,66	4,95	5,1	14,4
	8,5	4,85	5,2	15,2
	9,58	5,72	4,96	14,1
	9,48	5,18	5,48	14,5
	7,55	4,33	4,32	15,1
Promedio	8,8428	5,0628	5,132	14,452

4.1.6 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con los consorcios microbianos, frente a plantas control.

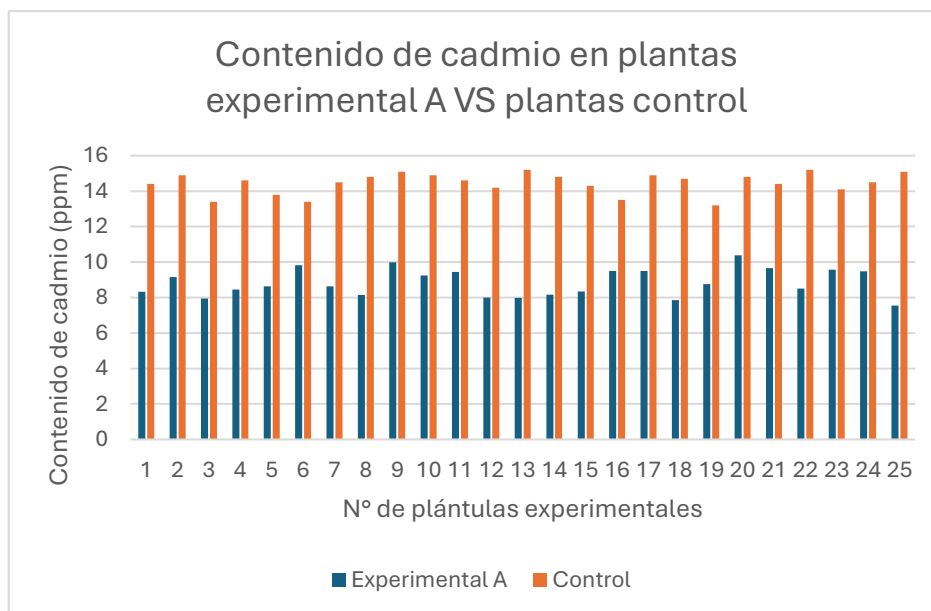


Gráfico 7 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio A, frente a plantas control

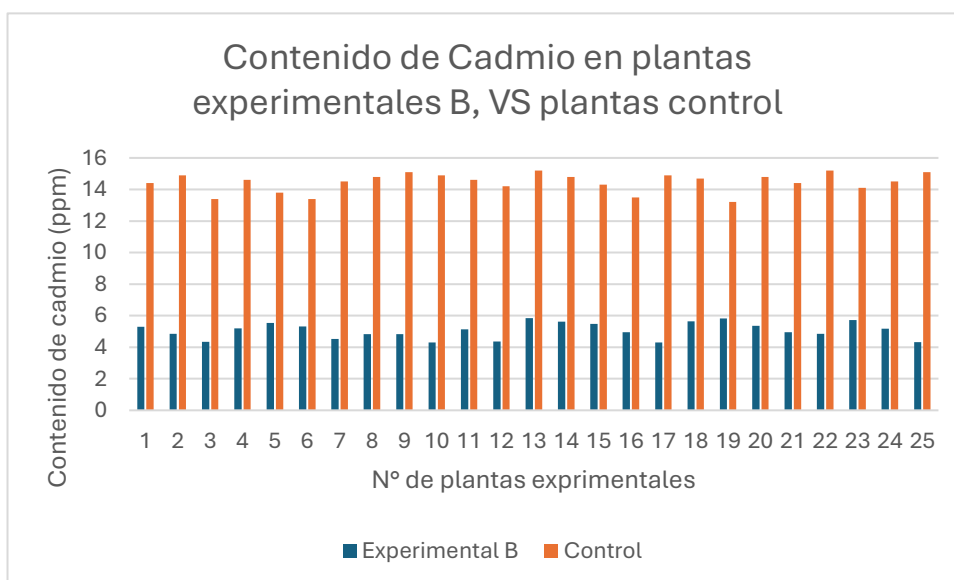


Gráfico 8 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio B, frente a plantas control

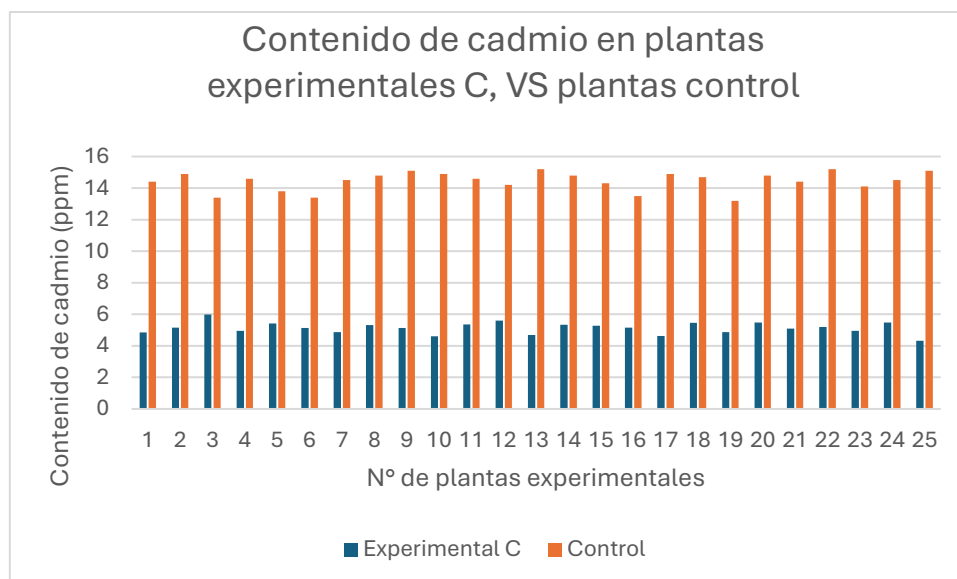


Gráfico 9 Comparación del contenido de cadmio en plántulas del cacao inoculadas con consorcio C, frente a plantas control

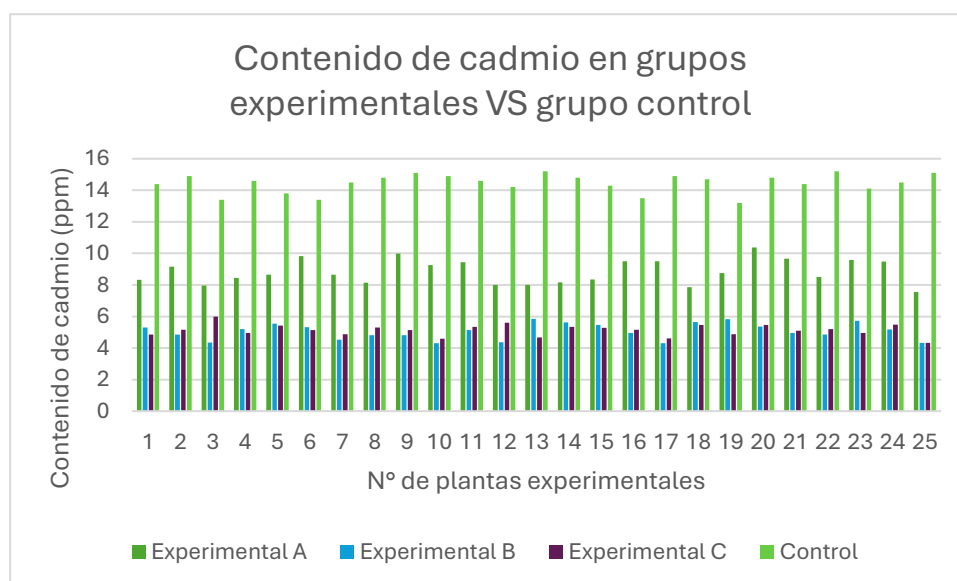


Gráfico 10 Comparación, de los consorcios y el control, respecto a la eficacia para reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos cacaoteros.

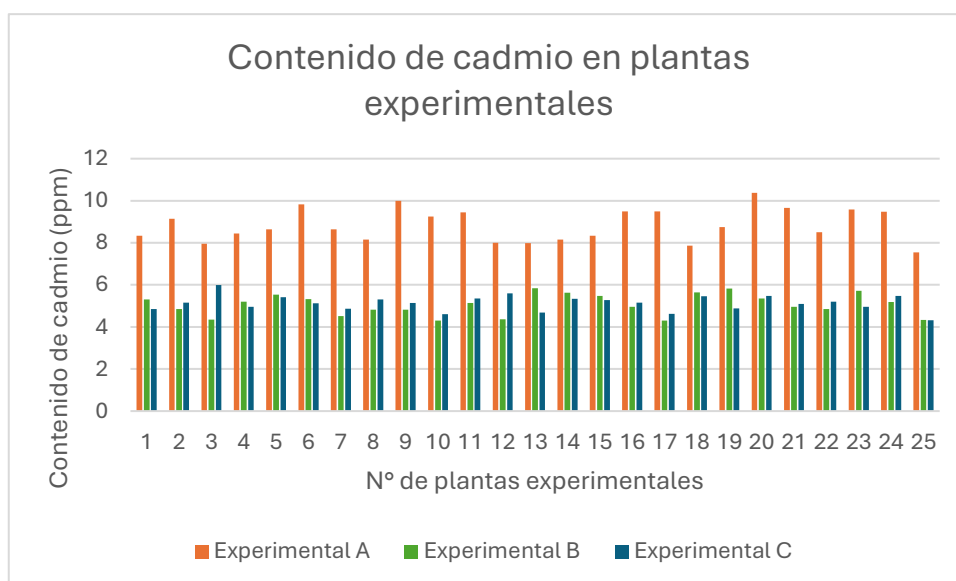


Gráfico 11 Comparación, entre los consorcios respecto a la eficacia para reducir la biodisponibilidad de cadmio en suelos cacaoteros.

Discusión de resultados

La presente investigación evaluó la eficacia del prototipo de sistema microbiano compuesto por bacterias y hongos tolerantes a 800 ppm de cadmio como un potencial sistema biorremediador de suelos agrícolas contaminados con cadmio, a través de una metodología de la cual se determinó el contenido de cadmio presente en cultivos agrícolas comparando este resultado con un control el cual carece el sistema microbiano. El ensayo culminó a los 60 días y se comparó el resultado de un porcentaje de reducción de 39.10, 64.90 y 64.60% correspondiente a un contenido de cadmio en los cultivos de 8.84, 5.06 y 5.13 ppm, respectivamente de los tres experimentos. A comparación del control donde se obtuvo un contenido de (14.45 ppm) Tabla N° 10 y gráfico N° 10. Estos hallazgos confirman la validez de la hipótesis planteada y refuerzan la pertinencia de la biorremediación como estrategia sostenible frente a los métodos fisicoquímicos tradicionales, los cuales suelen ser costosos, complejos y poco viables en contextos rurales (Liu et al., 2018).

La reducción de Cd alcanzada en este estudio concuerda con resultados internacionales que destacan el potencial de los microorganismos como agentes biorremediadores. Liu et al. (2024) demostraron que *Bacillus siamensis* R27 logró remover hasta un 80,1 % de Cd en lechuga, mientras que Zulfiqar et al. (2023b) documentaron casos donde el uso de consorcios microbianos permitió alcanzar tasas de remoción cercanas al 98 %. La concordancia entre estos trabajos y la presente investigación resalta que la estrategia basada en comunidades microbianas es superior a la aplicación de cepas individuales, dado que los microorganismos interactúan de forma sinérgica en la inmovilización y biosorción del metal.

Más aún, estudios recientes refuerzan esta evidencia. Liang et al. (2025) identificaron cepas de *Bacillus cereus* resistentes a Cd con elevada bioadsorción y producción de sideróforos, mientras que Ramos Suárez et al. (2025) caracterizaron hongos filamentosos nativos con alta tolerancia a Cd (IC_{50} de 25–311 mg/L), confirmando que tanto bacterias como hongos pueden

integrarse en consorcios efectivos. Estos antecedentes respaldan la decisión metodológica de formular consorcios bacterianos y fúngicos en este trabajo, pues su acción conjunta explica los porcentajes de reducción obtenidos. Tabla N°8.

En el contexto específico del cacao, Schmidt et al. (2025) reportaron en Trinidad y Tobago la presencia de bioindicadores microbianos en la rizósfera asociados con menores niveles de Cd en tejidos de *Theobroma cacao*. Estos resultados se alinean con los de la presente investigación, donde la manipulación de la comunidad microbiana del suelo resultó determinante para reducir la transferencia del Cd hacia las plántulas.

A nivel nacional, Alcarraz et al. (2021) aislaron cepas fúngicas nativas de plantaciones de cacao en Junín y demostraron su resistencia a concentraciones de hasta 350 ppm de Cd, lo que valida el potencial de los recursos microbianos locales. Asimismo, Díez-Marulanda et al. (2023) confirmaron en Colombia que bacterias ureasa-positivas de los géneros *Serratia* y *Acinetobacter* lograron remociones de hasta 99,7 % de Cd en condiciones de laboratorio. Estos hallazgos respaldan la eficacia de los aislamientos nativos de la presente investigación, cuya capacidad de biosorción superó el 30 %, Tabla N° 6, criterio adoptado para su selección en los consorcios formulados.

La efectividad de los consorcios microbianos está vinculada a diversos mecanismos de acción. En primer lugar, la biosorción de Cd en las paredes celulares de bacterias y hongos, compuestas por polisacáridos y proteínas con grupos funcionales, constituye un proceso ampliamente documentado (Tang et al., 2024). En segundo lugar, la bioacumulación intracelular permite el secuestro del metal dentro de la célula, reduciendo su disponibilidad en el entorno. Finalmente, la biomineralización transforma Cd^{2+} en compuestos insolubles como carbonatos (CdCO_3) o sulfuros (CdS), disminuyendo su movilidad y toxicidad en el suelo (Naddela & Marcial, 2021).

Este último mecanismo fue descrito por Luo et al. (2023), quienes evidenciaron que *Enterobacter* sp. LYX-2 inmovilizó un 96,05 % de Cd^{2+} mediante la producción de álcali y la posterior precipitación del metal. En línea

con ello, la reducción observada en los suelos experimentales del presente estudio puede atribuirse a la acción conjunta de estos mecanismos, potenciados por la baja antagonicidad entre las cepas seleccionadas.

Más allá de la validación experimental, los resultados de esta investigación tienen una relevancia práctica inmediata. La Unión Europea, a través del Reglamento N.º 488/2014, ha establecido límites máximos de Cd en cacao seco (0,5 ppm), lo que amenaza la competitividad del cacao peruano en los mercados internacionales (Rofner, 2021). En este contexto, la reducción de Cd lograda mediante consorcios microbianos representa una herramienta concreta para que los agricultores y cooperativas puedan cumplir con dichas normativas y mantener acceso a los mercados de exportación.

García Porras et al. (2025) destacan que la integración de soluciones microbianas con prácticas agronómicas —como el uso de genotipos de baja acumulación o la aplicación de enmiendas orgánicas— fortalece las estrategias de mitigación de Cd. Los hallazgos del presente trabajo se alinean con esta visión integral, pues la tecnología desarrollada es transferible, de bajo costo y compatible con sistemas de producción campesinos y cooperativos. Ello coincide con el enfoque planteado por Velásquez-Vélez et al. (2022), quienes subrayan que el Cd en cacao es tanto un problema ambiental como socioeconómico, y que su solución debe ser sostenible y accesible.

Si bien los resultados son alentadores, es necesario reconocer ciertas limitaciones. La eficacia de los consorcios microbianos puede variar según factores edáficos como el pH, la textura del suelo o el contenido de materia orgánica, variables que influyen en la movilidad del Cd (Argüello et al., 2019). Asimismo, los ensayos realizados se centraron en condiciones experimentales controladas, por lo que se recomienda validar el prototipo en parcelas piloto con distintas condiciones agroecológicas.

De cara al futuro, resulta pertinente incorporar análisis moleculares para caracterizar los genes implicados en la tolerancia y detoxificación del Cd. Galán-Freyte et al. (2025) identificaron genes como *czcA*, *cadA* y *zntA*,

asociados a la resistencia microbiana a Cd, lo cual abre la posibilidad de optimizar los consorcios seleccionados mediante herramientas de biología molecular o incluso edición genética. Adicionalmente, la combinación de esta estrategia con enmiendas como biochar o compost podría potenciar los resultados, tal como se ha demostrado en investigaciones regionales (Bravo et al., 2019).

La evidencia presentada demuestra que la biorremediación mediante consorcios microbianos nativos constituye una alternativa eficaz, sostenible y transferible para enfrentar la problemática del Cd en suelos cacaoteros. La articulación de mecanismos microbianos comprobados, el respaldo de investigaciones recientes y la aplicabilidad práctica en contextos locales y globales posicionan esta tecnología como una contribución significativa tanto a nivel científico como socioeconómico.

4.2. Pruebas de hipótesis

Prueba de hipótesis sobre la concentración de cadmio en plantas

Hipótesis

- H_0 (hipótesis nula): No existen diferencias significativas en la concentración de cadmio (Cd) en las plantas tratadas con los consorcios microbianos (A, B y C) respecto al control.
- H_1 (hipótesis alterna): Al menos uno de los tratamientos con consorcios microbianos (A, B o C) reduce significativamente la concentración de cadmio en comparación con el control.

Con el objetivo de evaluar el efecto de los consorcios microbianos sobre la bioacumulación de cadmio en las plantas, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía considerando cuatro grupos: Control, Experimental A, Experimental B y Experimental C.

Los resultados mostraron diferencias altamente significativas entre los grupos ($F = 1460.68$; $p < 0.0001$), lo cual indica que al menos uno de los tratamientos difirió en la concentración de cadmio respecto a los demás.

Los valores promedio obtenidos fueron: Control = 14.45 ppm, A = 8.84 ppm, B = 5.06 ppm y C = 5.13 ppm. Posteriormente, se realizaron comparaciones pareadas mediante pruebas t de Welch con corrección de Bonferroni. Estas evidenciaron que los tres tratamientos (A, B y C) redujeron significativamente la concentración de cadmio en comparación con el control ($p < 0.001$). Asimismo, se encontró que los tratamientos B y C no difirieron estadísticamente entre sí ($p = 0.581$), mientras que el tratamiento A sí presentó diferencias significativas respecto a B y C ($p < 0.001$).

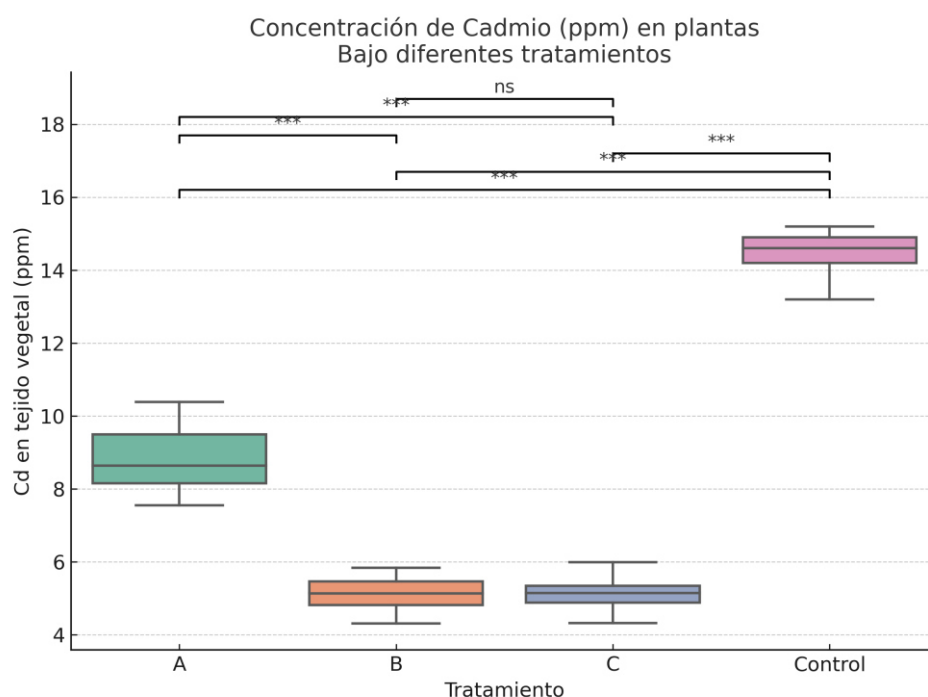


Gráfico 12 Concentración de cadmio (ppm) en plantas bajo diferentes tratamientos, donde se observan reducciones medias de 39.10% (A), 64.90% (B) y 64.60% (C) respecto al control. Estos resultados confirman que los consorcios microbianos aplicados ejercen un efecto reductor en la acumulación de cadmio en los tejidos vegetales.

4.3. Presentación de resultados

Los resultados obtenidos respaldan la hipótesis alterna planteada, demostrando que la inoculación con consorcios microbianos disminuye significativamente la concentración de cadmio en las plantas en comparación con el control. El hecho de que los tratamientos B y C presentaran los valores más bajos de cadmio, sin diferencias estadísticas entre ellos, sugiere que ambos consorcios tienen un potencial similar en la mitigación del estrés por metales pesados. Por otro lado, aunque el tratamiento A redujo en menor proporción el cadmio, también evidenció una diferencia significativa frente al control, lo que confirma su efectividad parcial.

Estos hallazgos coinciden con estudios previos (Alvarado et al., 2024; Wang et al., 2022; Zhou et al., 2023), donde consorcios bacterianos promueven procesos de biosorción, bioacumulación y exclusión de metales pesados en plantas, reduciendo la toxicidad y favoreciendo la fitoprotección. De esta manera, los resultados constituyen una base sólida para recomendar el uso de consorcios microbianos en programas de biorremediación de suelos contaminados con cadmio.

CAPITULO 5: IMPACTOS

5.1. Propuesta para la solución del problema

Esta investigación plantea como alternativa la creación de un sistema microbiano basado en consorcios de bacterias y hongos propios de la selva central, capaces de resistir y tolerar al cadmio. Este prototipo no solo logra atrapar y acumular el metal en el suelo, reduciendo su disponibilidad, sino que también tiene la capacidad de bioadsorber y bioacumular el cadmio, disminuyendo su biodisponibilidad en suelos agrícolas de plantas de cacao, alcanzando reducciones de hasta un 65 % respecto al control. Constituyéndose el mejor el consorcio B respecto a los otros experimentados.

A diferencia de los métodos químicos o físicos, esta propuesta representa una opción más amigable y sostenible, porque: Utiliza recursos locales, microorganismos ya adaptados a las condiciones del suelo y del clima. Reduce costos, evitando la dependencia de insumos externos costosos.

Cuida el ambiente, ya que no genera efectos secundarios que perjudiquen al suelo o a los ecosistemas. Tiene un potencial de expansión, pudiendo aplicarse también en otros cultivos sensibles al cadmio, como café, arroz u hortalizas.

5.2. Costos de implementación de la propuesta

La implementación del prototipo microbiano implica costos principalmente asociados a: Producción en laboratorio o biofábricas, aislamiento, cultivo y multiplicación de cepas microbianas en medios específicos, costo estimado bajo-mediano, dependiendo de la infraestructura instalada en universidades o cooperativas, formulación y transporte, reparación del inoculante (sólido o líquido) y empaquetado para su aplicación en campo, costo relativamente bajo frente a insumos químicos, capacitación y transferencia tecnológica, entrenamiento a técnicos y agricultores en la aplicación del inoculante microbiano costo moderado, pero con alta replicabilidad, aplicación en campo, incorporación del inoculante en viveros y parcelas agrícolas costo bajo en comparación con fertilizantes o enmiendas químicas.

Cuadro 10 Estimación de costos de la propuesta

Concepto	Detalle	Costo aproximado (USD)
Producción del bioinsumo	Cultivo, inmovilización y formulación de consorcios microbianos (dosis para 1 ha)	350
Soportes inorgánicos	Zeolita, dolomita y carbón activado como vehículos de inmovilización	150
Aplicación en vivero y campo	Mano de obra y transporte para inoculación	150
Monitoreo de cadmio	Análisis de suelo y grano en laboratorio certificado (2 muestreos)	300
Capacitación técnica	Talleres de inducción y asistencia técnica básica	200
Total por hectárea (primer año)		1,150 USD

5.3. Beneficios que aporta la propuesta

a) Beneficios ambientales

- Descontaminación progresiva de suelos agrícolas afectados por cadmio.
- Recuperación de la fertilidad y biodiversidad microbiana del suelo.
- Reducción de riesgos de contaminación de aguas subterráneas y ecosistemas cercanos.

b) Beneficios sociales

- Contribuye a la seguridad alimentaria al disminuir la entrada de cadmio en la cadena alimenticia.
- Protege la salud pública, reduciendo exposición crónica a metales pesados en zonas agrícolas.

- Favorece la capacitación y apropiación tecnológica por parte de comunidades rurales.

c) Beneficios económicos

- Incrementa la competitividad del cacao y otros cultivos de exportación, al cumplir con los límites internacionales de cadmio (Unión Europea: 0.05 ppm en productos derivados).
- Reduce pérdidas por lotes rechazados en exportación, generando mayores ingresos para cooperativas y agricultores.
- Posiciona al Perú como país pionero en el uso de biotecnología microbiana autóctona para biorremediación agrícola.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que el **prototipo de sistema microbiano desarrollado es una alternativa biotecnológica eficaz, sostenible y de bajo costo** para la biorremediación de suelos agrícolas contaminados con cadmio y para la reducción de la acumulación del metal en plántulas de cacao. Su diseño, basado en microorganismos nativos, garantiza adaptabilidad a las condiciones edáficas locales y viabilidad para su implementación en campo. La tecnología generada tiene potencial de transferencia hacia agricultores y cooperativas, contribuyendo a mejorar la calidad del cacao peruano, asegurar el cumplimiento de normativas internacionales y fortalecer la competitividad agrícola del país.

1. Se aislaron e identificaron **237 microorganismos nativos** (104 bacterias, 118 hongos y 15 actinomicetos) provenientes de suelos cacaoteros contaminados con cadmio, lo que demuestra que estos ecosistemas mantienen comunidades microbianas diversas y adaptadas a condiciones de estrés metálico. Esta diversidad constituye un recurso biológico valioso para el desarrollo de estrategias de biorremediación basadas en microorganismos autóctonos.
2. Las pruebas de tolerancia a 200, 400 y 800 ppm de cadmio permitieron determinar que un conjunto significativo de las cepas aisladas presenta resistencia elevada al metal, confirmando la presencia de mecanismos fisiológicos y bioquímicos de detoxificación en microorganismos nativos de suelos contaminados. Esta evidencia sustenta su potencial aplicabilidad en sistemas de biorremediación.
3. La evaluación de bioadsorción permitió seleccionar un grupo de bacterias, hongos y un actinomiceto que superaron el 30 % de remoción de cadmio, destacando su capacidad para inmovilizar o transformar el metal. Estas cepas fueron identificadas como candidatas idóneas para la integración de consorcios microbianos funcionales orientados a la biorremediación de suelos agrícolas.
4. Se diseñaron y establecieron **tres consorcios microbianos** combinando bacterias, hongos y actinomicetos seleccionados. Las

pruebas de compatibilidad demostraron ausencia de antagonismos críticos y evidenciaron sinergias metabólicas que potencian los mecanismos de biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización del cadmio, fundamentales para el desarrollo del prototipo de sistema microbiano.

5. La aplicación de los consorcios microbianos en suelos con cadmio mostró reducciones significativas de biodisponibilidad del metal, logrando eficiencias que oscilaron entre **39.10 % y 64.90 %**, valores sustancialmente superiores a los del tratamiento control. Estos resultados confirman la efectividad de los sistemas microbianos diseñados para disminuir la fracción móvil del cadmio en suelos agrícolas.
6. Las plántulas de cacao inoculadas con los consorcios microbianos presentaron una disminución notable en el contenido de cadmio acumulado en sus tejidos, alcanzando reducciones de hasta **64.60 %** respecto al control. Esto demuestra que los microorganismos no solo actúan sobre el suelo, sino que además reducen el ingreso del metal a la planta, contribuyendo a producir cacao dentro de los límites admisibles para exportación.
7. Entre las formulaciones evaluadas, uno de los consorcios (Consortio B) mostró la mayor eficacia tanto en la inmovilización del cadmio en suelo como en la limitación de su absorción por las plántulas. Este consorcio se consolida como el **prototipo microbiano más eficiente**, validando su potencial para ser aplicado a escala agrícola y transferido como tecnología de remediación a productores de

RECOMENDACIONES

1. Ampliar los estudios a nivel de campo en diferentes regiones cacaoteras, con distintos tipos de suelos y condiciones edafoclimáticas, para validar la eficacia del consorcio microbiano en escenarios reales y variables.
2. Optimizar la formulación de los consorcios microbianos, evaluando combinaciones específicas de bacterias y hongos con propiedades complementarias (p. ej., solubilizadores de fosfato, productores de sideróforos, exopolisacáridos), a fin de potenciar la bioadsorción y bioacumulación de cadmio.
3. Evaluar interacciones con la rizósfera del cacao, incluyendo estudios de competencia entre raíces y microorganismos por el cadmio, así como los posibles efectos de metabolitos secundarios en la disponibilidad del metal.
4. Monitorear efectos en la calidad del suelo y en la planta, no solo midiendo cadmio residual, sino también variables agronómicas como crecimiento, producción de biomasa, calidad del grano y presencia de otros nutrientes.
5. Incorporar tecnologías complementarias de biorremediación, como la fitorremediación o el uso de biochar, que en sinergia con los consorcios microbianos pueden incrementar la eficiencia y reducir costos.
6. Promover programas de transferencia tecnológica hacia cooperativas y asociaciones de agricultores, acompañados de capacitaciones breves, que permitan aplicar la tecnología de manera práctica y sostenible en el sector productivo.
7. Realizar estudios a largo plazo, evaluando la persistencia y estabilidad del sistema microbiano en suelos tratados, así como los riesgos ecológicos potenciales de su liberación en ambientes agrícolas.

8. Establecer programas nacionales de biorremediación para cultivos regulados por la Unión Europea, como cacao y café.

Dado que los límites máximos de cadmio impuestos por la Unión Europea afectan directamente la competitividad del cacao peruano, se recomienda que PRODUCE, MINAGRI y el MINAM impulsen un Programa Nacional de Remediación Biológica del Cd, incorporando prototipos microbianos validados como el desarrollado en esta investigación.

Este programa debería incluir incentivos para la adopción tecnológica, monitoreo oficial y asistencia técnica especializada.

9. Promover políticas de incentivo a la investigación y adopción tecnológica en cooperativas cacaoteras.
10. Promover la creación de un marco de incentivos para productores que reduzcan el cadmio en sus cultivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abo-Alkasem, M. I., Hassan, N. H., & Abo Elsoud, M. M. (2023). Microbial bioremediation as a tool for the removal of heavy metals. *Bulletin of the National Research Centre*, 47(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01006-z>
- Alvarado, R., Arriagada-Escamilla, C., Ortiz, J., Campos-Vargas, R., & Cornejo, P. (2024). Alginate–Bentonite Encapsulation of Extremophilic Bacterial Consortia Enhances Chenopodium quinoa Tolerance to Metal Stress. *Microorganisms*, 12(10), 2066. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102066>
- Cárdenas Morales, A. A. (2012). *Presencia de cadmio en algunas parcelas de cacao orgánico en la Cooperativa Agraria Industrial Naranjillo—Tingo María—Perú* [Tesis pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <https://repositorio.unas.edu.pe/server/api/core/bitstreams/0df0d32c-40da-4fb5-8500-aae5fa4e0193/content>
- Carrillo Zenteno, M. D., Valarezo, J. X., Vera-Benites, L., Torres, D., & García-Orellana, Y. (2023). *La omisión de nutrientes para la remediación de suelos contaminados con Cadmio en cultivos de cacao y arroz*. 109-137. <https://zenodo.org/records/10390226>
- Curi, M. A., Gutierrez, A. M. E., Montesinos, M. K. Y. E., Ibarra, J. P. J., Godoy, D. D. R., Manrique, A. S. S., & Atanacio, J. W. P. (2021). Cadmium-Resistant Fungi from Cocoa Crops: Isolation, Morphological Identification and Tolerance Assessment. *New Visions in Biological Science Vol. 5*, 29-38. <https://doi.org/10.9734/bpi/nvbs/v5/2764E>
- Dou, X., Dai, H., Twardowska, I., & Wei, S. (2019). Hyperaccumulation of Cd by *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. From soil enriched with different Cd compounds, and impact of soil amendment with glutathione (GSH) on the

hyperaccumulation efficiency. *Environmental Pollution*, 255, 113270.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113270>

García Porras, G. A., Santos, J. A. dos, Carvalho, M. R. de, Pinzón-Sandoval, E. H., Pereira, A. A. S., & Guilherme, L. R. G. (2025). Addressing Cadmium in Cacao Farmland: A Path to Safer, Sustainable Chocolate. *Agriculture*, 15(4), 433. <https://doi.org/10.3390/agriculture15040433>

Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>

Hou, D., Jia, X., Wang, L., McGrath, S. P., Zhu, Y.-G., Hu, Q., Zhao, F.-J., Bank, M. S., O'Connor, D., & Nriagu, J. (2025). Global soil pollution by toxic metals threatens agriculture and human health. *Science*, 388(6744), 316-321. <https://doi.org/10.1126/science.adr5214>

Huaraca-Fernandez, J. N., Pérez-Sosa, L., Bustinza-Cabala, L. S., Pampa-Quispe, N. B., Huaraca-Fernandez, J. N., Pérez-Sosa, L., Bustinza-Cabala, L. S., & Pampa-Quispe, N. B. (2020). Organic amendments in the immobilization of cadmium in contaminated agricultural soils: A review. *Información tecnológica*, 31(4), 139-152. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000400139>

Kayiranga, A., Li, Z., Isabwe, A., Ke, X., Simbi, C. H., Ifon, B. E., Yao, H., Wang, B., & Sun, X. (2023). The Effects of Heavy Metal Pollution on Collembola in Urban Soils and Associated Recovery Using Biochar Remediation: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4), 3077. <https://doi.org/10.3390/ijerph20043077>

Kubier, A., Wilkin, R. T., & Pichler, T. (2019). Cadmium in soils and groundwater: A review. *Applied geochemistry : journal of the International Association of*

Geochemistry and Cosmochemistry, 108, 1-16.

<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104388>

Kurniawan, S. B., Ramli, N. N., Said, N. S. M., Alias, J., Imron, M. F., Abdullah, S. R.

S., Othman, A. R., Purwanti, I. F., & Hasan, H. A. (2022). Practical limitations of bioaugmentation in treating heavy metal contaminated soil and role of plant growth promoting bacteria in phytoremediation as a promising alternative approach. *Heliyon*, 8(4), e08995.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08995>

Lam, N. T., Song, S., Dung, B. T. N., Binh, T. N., Maleki, A., Godini, K., & Tang, V. T.

(2022). Potential Role of Combined Microbial Inoculants and Plant of *Limnocharis flava* on Eliminating Cadmium from Artificial Contaminated Soil. *Sustainability*, 14(19), 12209. <https://doi.org/10.3390/su141912209>

Li, L., & Ma, Y. (2025). Rhizosphere effects on cadmium fractionation in

contaminated soils: A comparative study of ultisols and alfisols. *Scientific Reports*, 15, 28297. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-14241-3>

Liang, B., Feng, Y., Ji, X., Li, C., Li, Q., Zeng, Z., & Wang, Y. (2025). Isolation and characterization of cadmium-resistant *Bacillus cereus* strains from Cd-contaminated mining areas for potential bioremediation applications.

Frontiers in Microbiology, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1550830>

Liu, S., Huang, Y., Zheng, Q., Zhan, M., Hu, Z., Ji, H., Zhu, D., & Zhao, X. (2024a).

Cd-Resistant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria *Bacillus siamensis* R27 Absorbed Cd and Reduced Cd Accumulation in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Microorganisms*, 12(11), 2321.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms12112321>

Liu, S., Huang, Y., Zheng, Q., Zhan, M., Hu, Z., Ji, H., Zhu, D., & Zhao, X. (2024b).

Cd-Resistant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria *Bacillus siamensis* R27 Absorbed Cd and Reduced Cd Accumulation in Lettuce (*Lactuca sativa* L.).

Microorganisms, 12(11), 2321.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms12112321>

Ministerio de la Producción—PRODUCE. (2025, septiembre 12).

<https://www.gob.pe/produce>

Morejón-Lucio, R., & Morejón-Centeno, M. (2024a). Técnicas para mitigar y reducir el cadmio en *Theobroma cacao* L.: Una revisión. *Agroindustrial Science*, 14(3), 271-280. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2024.03.10>

Morejón-Lucio, R., & Morejón-Centeno, M. (2024b). Técnicas para mitigar y reducir el cadmio en *Theobroma cacao* L.: Una revisión. *Agroindustrial Science*, 14(3), 271-280. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2024.03.10>

Naddela, R., & Marcial, M. (2021). *Mitigación del cadmio por microorganismos*. 12, 38. https://cefaecuador.org/wp-content/uploads/2022/05/Guia_12.pdf#:~:text=Los%20microorganismos%20i nmovilizan%20metales%20a,Cd2%2B%20en%20forma%20de%20sales

Nie, X., Huang, X., Li, M., Lu, Z., & Ling, X. (2024). Advances in Soil Amendments for Remediation of Heavy Metal-Contaminated Soils: Mechanisms, Impact, and Future Prospects. *Toxics*, 12(12), 872. <https://doi.org/10.3390/toxics12120872>

Nieves, Y., Parra, N., Villanueva, S., & Henríquez, M. (2019). Nota técnica: Biorremediación, enemigo del cadmio. *Revista INGENIERÍA UC*, 26(1), 96-104. https://www.redalyc.org/journal/707/70758484010/html/?utm_source=chatgpt.com

Pande, V., Pandey, S. C., Sati, D., Bhatt, P., & Samant, M. (2022). Microbial Interventions in Bioremediation of Heavy Metal Contaminants in Agroecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.824084>

- Pikuła, D., & Stępień, W. (2021). Effect of the Degree of Soil Contamination with Heavy Metals on Their Mobility in the Soil Profile in a Microplot Experiment. *Agronomy*, 11(5), 878. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050878>
- Quiroga-Mateus, R., López-Zuleta, S., Chávez, E., & Bravo, D. (2022). Cadmium-Tolerant Bacteria in Cacao Farms from Antioquia, Colombia: Isolation, Characterization and Potential Use to Mitigate Cadmium Contamination. *Processes*, 10(8), 1457. <https://doi.org/10.3390/pr10081457>
- Ramos Suárez, D. E., Valdivia-Flores, A. G., Guerrero Barrera, A. L., Flores Amaro, O. A., Yamamoto Flores, L., Gutierrez Corona, J. F., Bautista Bautista, J. C., & Avelar González, F. J. (2025). Cadmium and Lead Tolerance of Filamentous Fungi Isolated from Contaminated Mining Soils. *Biology*, 14(6), 688. <https://doi.org/10.3390/biology14060688>
- Rofner, N. F. (2021a). Cadmio en suelos y granos de cacao de origen peruano y sudamericano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 74(2), 9499-9515. <https://www.redalyc.org/journal/1799/179967414005/>
- Rofner, N. F. (2021b). Revisión Sobre Límites Máximos De Cadmio En Cacao (theobroma Cacao L.). *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 34(2), 117-130. <https://www.redalyc.org/journal/4760/476068396010/html/>
- Rosales-Huamaní, J., Centeno-Rojas, L., Cajacuri-Perez, J., Luis-Breña, J., Chávez-Chapana, C., Rosales-Huamaní, J., Centeno-Rojas, L., Cajacuri-Perez, J., Luis-Breña, J., & Chávez-Chapana, C. (2021). Identificación de Cadmio y Plomo en los cultivos de cacao ubicados en la zona de Satipo—Junín. *Tecnia*, 31(2), 83-89. <https://doi.org/10.21754/tecnia.v21i2.1062>
- Schmidt, J. E., Lewis, C. A., Firl, A. J., & Umaharan, P. (2025). Microbial bioindicators associated with cadmium uptake in sixteen genotypes of Theobroma cacao. *Heliyon*, 11(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41890>

- Subašić, M., Šamec, D., Selović, A., & Karalija, E. (2022). Phytoremediation of Cadmium Polluted Soils: Current Status and Approaches for Enhancing. *Soil Systems*, 6(1), 3. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010003>
- Tang, H., Xiang, G., Xiao, W., Yang, Z., & Zhao, B. (2024). Microbial mediated remediation of heavy metals toxicity: Mechanisms and future prospects. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1420408>
- Tennakoon, A., Galahitigama, H., Samarakoon, S. M. A. B. K., Perera, I. J. J. U. N., Thakshila, G. P. G. I., Thiruketheeswaranathan, S., Roshana, M. R., Sandamal, S., Sewwandi, G. P. G. S. M., & Bellanthudawa, B. K. A. (2025). Remediating contaminated environmental systems: The role of plants in cadmium removal. *International Journal of Phytoremediation*, 27(7), 896-915. <https://doi.org/10.1080/15226514.2025.2456095>
- Universidad de las Américas, & Ramos, C. A. (2015). Los paradigmas de la investigación científica. *Avances en Psicología*, 23(1), 9-17. <https://doi.org/10.33539/avpsicol.2015.v23n1.167>
- Velásquez-Vélez, M. I., Galvis-Lora, C., Mejía-Córdoba, C. A., & Zapata-Guzman, J. E. (2022). Implicaciones de la acumulación de Cadmio en la cadena productiva del cacao. *Manglar*, 19(4), 391-397. <https://doi.org/10.57188/manglar.2022.049>
- Velásquez-Vélez, M. I., Galvis-Lora, C., Mejía-Córdoba, C. A., Zapata-Guzman, J. E., Velásquez-Vélez, M. I., Galvis-Lora, C., Mejía-Córdoba, C. A., & Zapata-Guzman, J. E. (2022). Implicaciones de la acumulación de Cadmio en la cadena productiva del cacao. *Manglar*, 19(4), 391-397. <https://doi.org/10.57188/manglar.2022.049>
- Vendramin, E., Pea, G., Dondini, L., Pacheco, I., Dettori, M. T., Gazza, L., Scalabrin, S., Strozzi, F., Tartarini, S., Bassi, D., Verde, I., & Rossini, L. (2014). A Unique Mutation in a MYB Gene Cosegregates with the Nectarine

Phenotype in Peach. *PLoS ONE*, 9(3), e90574.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090574>

Wang, Q., Zhou, Q., Huang, L., Xu, S., Fu, Y., Hou, D., Feng, Y., & Yang, X. (2022). Cadmium phytoextraction through *Brassica juncea* L. under different consortia of plant growth-promoting bacteria from different ecological niches. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 237, 113541. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113541>

Xu, L., Zhao, F., Xing, X., Peng, J., Wang, J., Ji, M., & Li, B. L. (2024). A Review on Remediation Technology and the Remediation Evaluation of Heavy Metal-Contaminated Soils. *Toxics*, 12(12), 897. <https://doi.org/10.3390/toxics12120897>

Yang, Y., Hassan, M. F., Ali, W., Zou, H., Liu, Z., & Ma, Y. (2025). Effects of Cadmium Pollution on Human Health: A Narrative Review. *Atmosphere*, 16(2), 225. <https://doi.org/10.3390/atmos16020225>

Yu, X., Zhao, J., Liu, X., Sun, L., Tian, J., & Wu, N. (2021). Cadmium Pollution Impact on the Bacterial Community Structure of Arable Soil and the Isolation of the Cadmium Resistant Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.698834>

Zhao, S., Yan, L., Kamran, M., Liu, S., & Riaz, M. (2024). Arbuscular Mycorrhizal Fungi-Assisted Phytoremediation: A Promising Strategy for Cadmium-Contaminated Soils. *Plants*, 13(23), 3289. <https://doi.org/10.3390/plants13233289>

Zhou, Y., Stepanenko, A., Kishchenko, O., Xu, J., & Borisjuk, N. (2023). Duckweeds for Phytoremediation of Polluted Water. *Plants*, 12(3), 589. <https://doi.org/10.3390/plants12030589>

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Maqsood, M. F., Mohy-Ud-Din, W., Shabaan, M., Ahmad, M., Kaleem, M., Ishfaq, M., Aslam, Z., & Shahzad, B. (2023a). Recent

Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated
Soil. *Plants*, 12(17), 3147. <https://doi.org/10.3390/plants12173147>

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Maqsood, M. F., Mohy-Ud-Din, W., Shabaan, M., Ahmad, M., Kaleem, M., Ishfaq, M., Aslam, Z., & Shahzad, B. (2023b). Recent Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated Soil. *Plants*, 12(17), 3147. <https://doi.org/10.3390/plants12173147>

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Maqsood, M. F., Mohy-Ud-Din, W., Shabaan, M., Ahmad, M., Kaleem, M., Ishfaq, M., Aslam, Z., & Shahzad, B. (2023c). Recent Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated Soil. *Plants*, 12(17), 3147. <https://doi.org/10.3390/plants12173147>

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Maqsood, M. F., Mohy-Ud-Din, W., Shabaan, M., Ahmad, M., Kaleem, M., Ishfaq, M., Aslam, Z., & Shahzad, B. (2023d). Recent Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated Soil. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(17), 3147. <https://doi.org/10.3390/plants12173147>

Zulfiqar, U., Haider, F. U., Maqsood, M. F., Mohy-Ud-Din, W., Shabaan, M., Ahmad, M., Kaleem, M., Ishfaq, M., Aslam, Z., & Shahzad, B. (2023e). Recent Advances in Microbial-Assisted Remediation of Cadmium-Contaminated Soil. *Plants*, 12(17), 3147. <https://doi.org/10.3390/plants12173147>

ANEXO 01**PATENTE DE INVENCION****PERÚ**Presidencia
del Consejo de Ministros**INDECOPI****Registro de la Propiedad Intelectual****Dirección de Invenciones y Nuevas Tecnologías****TÍTULO N° 13372**

La Dirección de Invenciones y Nuevas Tecnologías del Indecopi certifica que por mandato de la Resolución N° 001915-2025/DIN-INDECOPI de fecha 18 de agosto de 2025, ha quedado inscrita en el Registro de Patentes de Invención, la siguiente invención:

Denominación	: PROCEDIMIENTO DE INMOVILIZACIÓN DE UN CONSORCIO MICROBIANO TOLERANTE AL CADMIO
Clasificación	: C12N 11/04; C12N 1/04; C12Q 1/02; B01J 20/00
Solicitud	: 001268-2020
Fecha de Presentación	: 26 de agosto de 2020
Titular(es)	: BIOPROCESOS INDUSTRIALES CONSULTORES S.A.C.
País(es)	: Perú
Inventor(es)	: Mario ALCARRAZ CURI
Vigencia	: 26 de agosto de 2040



MANUEL CASTRO CALDERON
Director de Invenciones y
Nuevas Tecnologías
INDECOPI