

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Determinación de biomineralización a partir de bacterias de suelo y subsiguiente formulación de medio de cultivo a base de desechos industriales para la biorreparación de microgrietas en concreto.

**Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Ana Mercedes Heredia Velásquez
para optar al grado académico de Licenciado en Bioquímica y Microbiología**

Guatemala,

2019

Determinación de biomineralización a partir de bacterias de suelo y subsiguiente formulación de medio de cultivo a base de desechos industriales para la biorreparación de microgrietas en concreto.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades




Determinación de biomineralización a partir de bacterias de suelo y subsiguiente formulación de medio de cultivo a base de desechos industriales para la biorreparación de microgrietas en concreto.


**Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Ana Mercedes Heredia Velásquez
para optar al grado académico de Licenciado en Bioquímica y Microbiología**

Guatemala,
2019

Vo. Bo. :

(f) 
Msc. Julio Roberto Matute

Tribunal Examinador:

(f) 
Msc. Julio Roberto Matute

(f) 
Dra. Leda Pedelini Gassmann

(f) 
Msc. Shirley Torres

Fecha de aprobación: Guatemala 2 de diciembre de 2019

Índice

Lista de figuras	iv
Lista de cuadros	x
Resumen	xi
I. Introducción	1
II. Objetivos	2
A. Objetivo general:	2
B. Objetivos específicos:	2
III. Justificación	3
IV. Marco teórico	4
A. Concreto	4
1. Tipos de reparación del concreto	4
B. Bioconcreto	5
C. Bacterias de suelo	6
D. Biomineralización	7
1. Mineralización inducida biológicamente (MIB)	7
2. Mineralización controlada biológicamente (MCB)	7
a. Bacterias biomineralizadoras	8
b. Bacterias precipitadoras de carbonato de calcio	8
3. Mecanismos de producción del carbonato de calcio	9
E. <i>Quorum sensing</i>	11
F. Desechos industriales	11
1. Desechos de Moscamed	11
G. Centro de Investigación y Desarrollo de Cementos Progreso	12
V. Metodología	13
A. Sitio de estudio	16
B. Sujetos de estudio	16
C. Enfoque, diseño y tipo de investigación	16
D. Tipo y tamaño de muestra	16
E. Criterios de inclusión y exclusión	16
F. Variables	16
G. Hipótesis	18

H.	Viabilidad	19
I.	Materiales y métodos	19
1.	Identificación bioquímica y molecular de las bacterias con capacidad de realizar biomineralización de carbonato de calcio, provenientes de muestras de suelo.	19
a.	Aislamiento de bacterias presentes en muestras de suelo.....	19
1)	Dilución de muestras de suelo	19
2)	Dilución seriada de muestras y plaqueo de muestras.....	20
3)	Aislamiento de colonias bacterianas	20
b.	Identificación de cepas obtenidas a partir de muestras de suelo.....	20
1)	Tinción de Gram	20
2)	Realización de pruebas bioquímicas	21
a)	Prueba de oxidación y fermentación de azúcares.....	21
b)	Prueba de Voges-Proskauer y rojo de metilo.....	21
c)	Prueba de citrato.....	21
d)	Prueba de SIM e indol	22
e)	Prueba hierro tres azúcares	22
f)	Hierro lisina.....	22
g)	Prueba de ureasa.....	23
h)	Prueba de catalasa	23
3)	Identificación molecular	23
a)	Extracción de ADN	23
b)	PCR	24
c)	Determinación de presencia del gen 16S amplificado.....	25
d)	Secuenciación.....	25
4)	Tinción de esporas.....	25
2.	Determinación de la producción de carbonato de calcio.	26
a.	Pruebas de precipitación de carbonato de calcio.....	26
b.	Extracción de carbonato de calcio.....	27
c.	Determinación de Carbonato de Calcio.....	27
3.	Formulación del medio de cultivo a base de desechos industriales que permita el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.	27
a.	Realización de medio de cultivo a base de desechos industriales.....	27
b.	Pruebas de precipitación de carbonato de calcio.....	27
c.	Extracción de carbonato de calcio.....	27

d.	Determinación de carbonato de calcio.....	28
e.	Productividad de carbonato de calcio.....	28
4.	Adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio en columnas con medio de cultivo.....	28
J.	Plan de análisis de los datos y presentación de resultados.....	29
1.	Identificación y determinación de bacterias productoras de carbonato de calcio en muestras de suelo.	29
2.	Determinación de la producción de carbonato de calcio.	29
3.	Producción de carbonato de calcio en medio a base de desechos industriales.	29
VI.	Resultados	30
A.	Identificación bioquímica y molecular de las bacterias con capacidad de realizar biomineralización de carbonato de calcio, provenientes de muestras de suelo.	30
B.	Producción de carbonato de calcio en medio de cultivo formulado a base de desechos industriales y medio de cultivo comercial.	31
C.	Adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio en columnas con medio de cultivo.....	32
VII.	Análisis de resultados	34
VIII.	Conclusiones	38
IX.	Recomendaciones	39
X.	Bibliografía	40
XI.	Anexos	44

Lista de figuras

Figura No. 1: Reparación de grietas en concreto por medio de bacterias precipitadoras de carbonato de calcio.....	6
Figura No. 2: Tipos de polimorfismos de carbonato de calcio.	10
Figura No. 3: Proceso de producción de carbonato de calcio de bacterias ureolíticas.....	10
Figura No. 4: Esquema de metodología.....	13
Figura No.5: Esquema de metodología para la identificación bioquímica y molecular de las bacterias productoras de carbonato de calcio provenientes de muestras de suelo.	14
Figura No.6: Esquema de metodología para la formulación de un medio de cultivo a base de desechos industriales.	14
Figura No.7: Esquema de metodología para realizar las pruebas de precipitación de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y el formulado.	15
Figura No.8: Esquema de metodología para probar la capacidad bacteriana de biomineralización en columnas de arena.	15
Figura No. 9: Gel de electroforesis de productos de digestión con enzima RsaI.....	30
Figura No. 10: Prueba de adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio.	33
Figura No.11:Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.1.1.....	44
Figura No.12:Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.2.2A.....	44
Figura No.13: Tinción de Gram para muestra bacteriana. P.2.2B.....	45
Figura No.14: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.4.1A.....	45
Figura No.15: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.4.1B.....	46
Figura No.16: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.2A.....	46
Figura No.17: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.2B.....	47
Figura No.18: Tinción de Gram para Staphylococcus sp. P.5.2C.....	47
Figura No.19: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.3A.....	48
Figura No.20: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp./ Bacillus sp. P.5.3B.....	48
Figura No.21: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.6.1.....	49
Figura No.22: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.1.1.....	49
Figura No.23: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.2.2A.....	50
Figura No.24: Tinción de esporas para la muestra bacteriana. P.2.2B.....	50
Figura No.25: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.4.1A.....	51
Figura No.26: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.4.1B.....	51
Figura No.27: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.2A.....	52
Figura No.28: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.2B.....	52
Figura No.29: Tinción de esporas para Staphylococcus sp. P.5.2C.....	53
Figura No.30: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.3A.....	53
Figura No.31: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp./ Bacillus sp. P.5.3B.....	54
Figura No.32: Tinción de esporas para la muestra bacteriana Bacillales . P.6.1.....	54
Figura No.33: Gel de electroforesis para productos de PCR.....	55
Figura No.34:Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.1.1 con medio de cultivo comercial.....	57
Figura No.35: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.2.2A con medio de cultivo comercial.....	58

Figura No.36:Espectro IR de precipitado extraído de muestra de P.2.2B con medio de cultivo comercial.	59
Figura No.37: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1A con medio de cultivo comercial	60
Figura No.38: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1B con medio de cultivo comercial	61
Figura No.39: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.5.2A con medio de cultivo comercial	62
Figura No.40: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.5.2B con medio de cultivo comercial	63
Figura No.41: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Staphylococcus sp. P.5.2C con medio de cultivo comercial	64
Figura No.42: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.5.3A con medio de cultivo comercial	65
Figura No.43: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de. P.5.3B con medio de cultivo comercial	66
Figura No.44: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales P.6.1 con medio de cultivo comercial	67
Figura No.45: Espectro IR de precipitado extraído de muestra control con medio de cultivo comercial	68
Figura No.46: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.1.1 réplica 1 con medio de cultivo comercial	69
Figura No.47: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.1.1 réplica 2 con medio de cultivo comercial	70
Figura No.48: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.1.1 réplica 3 con medio de cultivo comercial	71
Figura No.49: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.2.2A réplica 1 con medio de cultivo comercial	72
Figura No.50: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.2.2A réplica 2 con medio de cultivo comercial	73
Figura No.51: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.2.2A réplica 3 con medio de cultivo comercial	74
Figura No.52: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana. P.2.2B réplica 1 con medio de cultivo comercial	75
Figura No.53: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B réplica 2 con medio de cultivo comercial	76
Figura No.54: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B réplica 3 con medio de cultivo comercial	77
Figura No.55: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1A réplica 1 con medio de cultivo comercial	78
Figura No.56: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1A réplica 2 con medio de cultivo comercial	79
Figura No.57: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1A réplica 3 con medio de cultivo comercial	80
Figura No.58: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1B réplica 1 con medio de cultivo comercial	81
Figura No.59: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1B réplica 2 con medio de cultivo comercial	82
Figura No.60: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp. P.4.1B réplica 3 con medio de cultivo comercial	83

Figura No.61: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2A réplica 1 con medio de cultivo comercial	84
Figura No.62: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2A réplica 2 con medio de cultivo comercial	85
Figura No.63: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2A réplica 3 con medio de cultivo comercial	86
Figura No.64: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B réplica 1 con medio de cultivo comercial	87
Figura No.65: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B réplica 2 con medio de cultivo comercial	88
Figura No.66: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B réplica 3 con medio de cultivo comercial	89
Figura No.67: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Staphylococcus</i> sp. P.5.2C réplica 1 con medio de cultivo comercial	90
Figura No.68: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Staphylococcus</i> sp. P.5.2C réplica 2 con medio de cultivo comercial	91
Figura No.69: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Staphylococcus</i> sp. P.5.2C réplica 3 con medio de cultivo comercial	92
Figura No.70: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.3A réplica 1 con medio de cultivo comercial	93
Figura No.71: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> s sp. P.5.3A réplica 2 con medio de cultivo comercial	94
Figura No.72: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.3A réplica 3 con medio de cultivo comercial	95
Figura No.73: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 1 con medio de cultivo comercial	96
Figura No.74: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 2 con medio de cultivo comercial	97
Figura No.75: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 3 con medio de cultivo comercial	98
Figura No.76: Espectro IR de precipitado extraído de muestra Bacillales. P.6.1 réplica 1 con medio de cultivo comercial	99
Figura No.77: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales sp. P.6.1 réplica 2 con medio de cultivo comercial	100
Figura No.78: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales P.6.1 réplica 3 con medio de cultivo comercial	101
Figura No.79: Espectro IR de precipitado extraído de control negativo con medio de cultivo comercial	102
Figura No.80: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp. P.1.1 con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	103
Figura No.81: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp.. P. 2.2A con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	104
Figura No.82: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B con medio de cultivo a base de desechos industriales	105
Figura No.83: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp.. P. 4.1A con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	106
Figura No.84: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de <i>Lysinibacillus</i> sp.. P. 4.1B con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	107

Figura No.85: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de s Lysinibacillus sp.. P. 5.2A con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	108
Figura No.86: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp.. P. 5.2B con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	109
FiguraNo.87: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Staphylococcus sp.. P. 5.2C con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	110
Figura No.88: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Lysinibacillus sp.. P. 5.3A con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	111
Figura No.89: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana. P. 5.3B con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	112
Figura No.90: Espectro IR de precipitado extraído de muestra Bacillales. P. 6.1 con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	113
Figura No.91: Espectro IR de precipitado extraído de control negativo con medio de cultivo a base de desechos industriales.....	114
Figura No.92: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.1.1 en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	115
Figura No.93: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.2.2A en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	116
Figura No.94: Curva de crecimiento de la muestra bacteriana P.2.2B en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	117
Figura No.95: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.4.1A en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	118
Figura No.97: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.5.2A en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	119
Figura No.98: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.5.2B en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	120
Figura No.99: Curva de crecimiento de Staphylococcus sp. P.5.2C en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	121
Figura No.100: Curva de crecimiento de Lysinibacillus sp. P.5.3A en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	122
Figura No.101: Curva de crecimiento de la muestra bacteriana. P.5.3B en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	123
Figura No.102: Curva de crecimiento de la muestra Bacillales P.6.1 en medio de cultivo a base de desechos industriales.....	124
Figura No.103: Diagrama de caj y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por Lysinibacillus sp. P.1.1 en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	131
Figura No.104: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por Lysinibacillus sp. P.2.2A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	132
Figura No.105: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra bacteriana P.2.2B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	133
Figura No.106: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por Lysinibacillus sp. P.4.1A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	134
Figura No,107: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por Lysinibacillus sp. P.4.1B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	135
Figura No,108: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por Lysinibacillus sp. P.5.A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.....	136

Figura No.109: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	137
Figura No.110: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por <i>Staphylococcus</i> sp. P.5.2C en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	138
Figura No.111: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.3A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	139
Figura No.112: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por <i>Lysinibacillus</i> sp./ <i>Bacillus</i> sp. P.5.3B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	140
Figura No.113: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales. P.6.1 en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	141
Figura No.114: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	142
Figura No.115: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	143
Figura No.116: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	144
Figura No.117: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	145
Figura No.118: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	146
Figura No.119: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	147
Figura No.120: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	148
Figura No.121: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Staphylococcus</i> sp. P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	149
Figura No.122: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	150
Figura No.123: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp./ <i>Bacillus</i> sp. P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	151
Figura No.124: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales P.6.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	152
Figura No.125: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	153
Figura No.126: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	153
Figura No.127: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	154
Figura No.128: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	154
Figura No.129: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	155
Figura No.130: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	155
Figura 131: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra <i>Lysinibacillus</i> sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	156

Figura No.132: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Staphylococcus sp. P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales	156
Figura No.133: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales	157
Figura No.134: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp./Bacillus sp. P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales	157
Figura No.135: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales P.6.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales	158
Figura No.136: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	158
Figura No.137: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	159
Figura No.138: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	159
Figura No.139: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	159
Figura No.140: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	160
Figura No.141: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	160
Figura No.142: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	160
Figura No.143: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Staphylococcus sp. P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	161
Figura No.144: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	161
Figura No.145: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Lysinibacillus sp. / Bacillus sp. P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	161
Figura No.146: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales P.6.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.	162
Figura No.147: Alineamiento de secuencias forward	162
Figura No.148: Alineamiento de secuencias reverse.....	163
Figura No.149: árbol filogenético para las secuencias forward.....	165
Figura No.150:árbol filogenético para las secuencias reverse	165
Figura No.151: árbol filogenético para las secuencias forward y reverse	166

Lista de cuadros

Cuadro No. 1: Variables para la determinación de bacterias productoras de carbonato de calcio en muestras de suelo	16
Cuadro No. 2: Variables para la determinación de la producción de carbonato de calcio.	17
Cuadro No. 3: Variables para la producción de carbonato de calcio en medio a base de desechos industriales.	17
Cuadro No. 4: Identificación de cepas bacterianas extraídas de muestras de suelo.	31
Cuadro No. 5: Capacidad bacteriana de biomineralizar carbonato de calcio en un medio de cultivo comercial y uno a base de desechos industriales.	32
Cuadro No. 6: Mapa de carga para productos de PCR	55
Cuadro No. 7: Mapa de carga para digestión enzimática de productos de PCR.....	55
Cuadro No. 8: Productividad de carbonato de calcio en medio de cultivo comercial y a base de desechos industriales	56
Cuadro No. 9: Productividad de carbonato de calcio en medio de cultivo a base de desechos industriales suplementado con fruta podrida	56
Cuadro No. 10: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 1.1	125
Cuadro No. 11: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 2.2A	125
Cuadro No. 12: Estadística descriptiva para la muestra de bacteria P. 2.2B	126
Cuadro No. 13: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 4.1A	126
Cuadro No. 14: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 4.1B	127
Cuadro No. 15: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 5.2A	127
Cuadro No. 16: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 5.2B	128
Cuadro No. 17: Estadística descriptiva para la muestra de Staphylococcus sp. P. 5.2C	128
Cuadro No. 18: Estadística descriptiva para la muestra de Lysinibacillus sp. P. 5.3A	129
Cuadro No. 19: Estadística descriptiva para de Lysinibacillus sp./ Bacillus sp. P. 5.3B	129
Cuadro No. 20: Estadística descriptiva para la muestra de Bacillales sin identificar. P. 6.1.....	130

Resumen

El concreto es uno de los materiales de construcción más utilizados, sin embargo, este material es propenso a la formación de grietas, que afectan la integridad de la estructura. Debido a que los procesos para su reparación son muy caros, se han buscado nuevas alternativas para tratar este problema. Actualmente se está desarrollando un nuevo método para la reparación de fisuras y grietas utilizando calcita inducida microbiológicamente que se utiliza como sellante microbiano, ya que esta muestra un alto potencial para consolidar las fisuras superficiales que se generan en el concreto. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es aislar e identificar bacterias productoras de carbonato de calcio, y comparar la productividad que tiene cada una de ellas, tanto en un medio comercial, como en un medio formulado a base de desechos industriales para tratar microgrietas de concreto en un medio controlado. A partir de muestras de suelo extraídas de la cantera de Cementos Progreso ubicada en Sanarate, se aislaron 11 cepas bacterianas de 8 especies distintas donde 8 cepas son del género *Bacillus* con la capacidad de producir carbonato de calcio. Además, se logró formular un medio a base de desechos industriales que no solo permite el crecimiento bacteriano, sino que también la precipitación del mineral. En conclusión, fue posible evaluar la capacidad de producción de carbonato de calcio a partir de muestras de suelo utilizando un medio de cultivo comercial y el propuesto. Se recomienda realizar ensayos en microgrietas para determinar la capacidad de biorreparación de concreto utilizando las cepas bacterianas aisladas, así como la secuenciación de las mismas para obtener una identificación más certera.

I. Introducción

Existen gran variedad de estructuras como puentes, edificios, carreteras, etc, cuyo material principal es el concreto. Este material está compuesto principalmente de una combinación de agua, cemento y agregados finos y gruesos. Siendo el cemento la parte esencial del concreto debido a que enlaza los agregados y llena los vacíos entre las partículas gruesas y finas. Este material de construcción es uno de los más utilizados debido a que cuenta con características como resistencia, hermeticidad, durabilidad y permeabilidad, haciendo que este sea un material idóneo para una amplia gama de estructuras ya que puede adaptarse a gran variedad de ambientes. Sin embargo, este material es propenso a la formación de grietas, las cuales no son deseables ya que permiten el paso de agua a la estructura principal permitiendo que los refuerzos de hierro se corroan (Seifan *et al.*, 2016). Además, la formación de grietas es una de las principales causas del deterioro del concreto, disminuyendo la durabilidad del mismo. Por lo tanto, el mantenimiento y reparación de estas grietas es esencial para prolongar la vida útil del material. Los métodos que actualmente se utilizan para el mantenimiento deben ser constantemente aplicados, y no son una solución permanente para el problema (Rodríguez-navarro *et al.*, 2003). Es por esto que se han buscado nuevas alternativas para tratar este problema y actualmente se está desarrollando un nuevo método para la reparación de fisuras y grietas utilizando calcita inducida microbiológicamente que se utiliza como sellante microbiano, ya que ésta muestra un alto potencial para consolidar las fisuras superficiales que se generan en el concreto de manera natural y libre de contaminantes (Díaz, 2015).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es aislar e identificar bacterias productoras de carbonato de calcio, y comparar la productividad que tiene cada una de ellas, tanto en un medio comercial, como en un medio formulado a base de desechos industriales para tratar microgrietas de concreto en un medio controlado. Se plantea que el medio formulado a base de desechos industriales cuenta con la capacidad de permitir el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio. Además, que muestra una diferencia significativa entre la producción de carbonato de calcio en un medio comercial y el formulado al contener una bacteria de suelo presente en una muestra de la cementera de CEMPRO con la capacidad de producir ureasa para la biomineralización de carbonato de calcio. Siendo al menos una de estas bacterias *Bacillus* sp., y que hace posible la biorreparación de microgrietas en placas de cemento que no contengan este agente externo en la mezcla inicial.

II. Objetivos

A. Objetivo general:

- Aislar e identificar bacterias productoras de carbonato de calcio, y comparar la productividad de cada una de ellas, tanto en un medio comercial, como en un medio a base de desechos industriales para tratar microgrietas de concreto en un medio controlado.

B. Objetivos específicos:

- Identificar bioquímicamente y molecularmente las bacterias con capacidad de realizar biomineralización de carbonato de calcio, provenientes de muestras de suelo.
- Formular un medio de cultivo a base de desechos industriales que permita el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.
- Realizar pruebas de precipitación de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y el formulado a base de desechos industriales.
- Probar la capacidad bacteriana de biomineralización en columnas de arena.

III. Justificación

Actualmente el cemento es uno de los materiales de construcción más utilizados, mas éste es susceptible a la formación de microgrietas debido a su textura porosa. Estas microgrietas y poros no son deseables ya que son una vía para el ingreso de agua y sustancias nocivas que pueden llevar a la corrosión de la estructura de acero que se utiliza para realizar la construcción. Esta corrosión puede hacer que se originen daños graves en la estructura de la construcción disminuyendo su vida útil. Debido a que el proceso para la reparación de estas grietas es muy costoso y necesita de materia prima industrial que causa contaminación, se han estudiado bacterias que tienen la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio las cuales pueden ser una alternativa favorable para llenar las microgrietas que se forman con el paso del tiempo en estas estructuras. Actualmente se han realizado investigaciones donde se realiza el curado exitoso de grietas en cemento seco utilizando bacterias aisladas de muestras de suelo, también, se han utilizando estas bacterias en una mezcla de concreto húmedo para la autorreparación de una estructura de concreto nueva. Por esta razón, en este estudio se busca aislar e identificar bacterias productoras de carbonato de calcio en muestras de suelo guatemalteco y comparar la productividad de cada una de ellas, tanto en un medio comercial, como en un medio a base de desechos industriales para tratar microgrietas de concreto en un medio controlado. Para que de esta forma se encuentre un método más económico para la reparación de estructuras de concreto, así como un método sostenible donde no se requiera de procesos industriales contaminantes para la obtención de la materia prima.

IV. Marco teórico

A. Concreto

El concreto es uno de los materiales de construcción más utilizados en distintas estructuras, esto se debe a que cuenta con características de resistencia, hermeticidad, durabilidad, permeabilidad, entre otras; que permiten que este se adapte al uso en distintos tipos de estructuras (Gracia Alarcón and Quesada Bolaños, 2012). Sin embargo, la durabilidad de éste está íntimamente relacionada con su porosidad, su permeabilidad y su compacidad. Es por esto, que se debe tener sumo cuidado en la selección de la tecnología que su utilizará para producir el concreto. Se debe prestar especial atención a su dosificación, producción, transporte, colocación, curado y vibrado. Dado que el concreto tiene una estructura altamente heterogénea y compleja, hay dificultad en poder predecir con exactitud y seguridad su comportamiento a futuro (Anne *et al.*, 2010). Es por esto que es importante tomar en cuenta que una estructura ya construida no se mantiene estable debido que la pasta de cemento y la zona de transición de esta, va evolucionando con el tiempo dado a factores como la humedad y temperatura que la van dañando. (O', Díaz *et al.*, 2010).

1. Tipos de reparación del concreto

Como se mencionaba anteriormente, las estructuras que están hechas a base de concreto tienden a agrietarse debido a la lluvia, aire, entre otros factores ambientales que pueden acelerar la formación de microgrietas (Gaspar and Brito, 2008). Esto pone en peligro la supervivencia de las estructuras ya que poco a poco este material sufre de desintegración granular, causando la pérdida de material de superficie y por tanto causando daños irreversibles (Doehne and Price, 2010). Por estas razones se opta por reparar las construcciones utilizando algunos métodos, como la impermeabilización. Este ayuda a reforzar las superficies para prevenir que el agua u otras sustancias presentes en el ambiente que ingresen al núcleo del cemento. Otra de las técnicas que se utilizan es el reforzamiento por medio de productos de cementación. Ambas técnicas que se realizan utilizan materiales orgánicos e inorgánicos como acrílicos, resinas epoxi, y soluciones de $Ba(OH)_2$. Cabe mencionar que a pesar que se ha visto que estos procedimientos de reparación del concreto son bastante efectivos, se deben estar retocando después de un tiempo por lo que no son del todo satisfactorios. En algunos casos, los tratamientos que contienen materiales orgánicos pueden crear películas superficiales que son insolubles con la estructura original y pueden liberar disolventes nocivos perjudiciales para la integridad de la estructura (Rodríguez-navarro *et al.*, 2003). Actualmente, se está desarrollando un nuevo método para la reparación de fisuras y grietas utilizando calcita inducida microbiológicamente que se utiliza como sellante microbiano, ya que esta muestra un alto potencial para consolidar las fisuras superficiales que se generan en el concreto de manera natural y libre de contaminantes (Díaz, 2015).

B. Bioconcreto

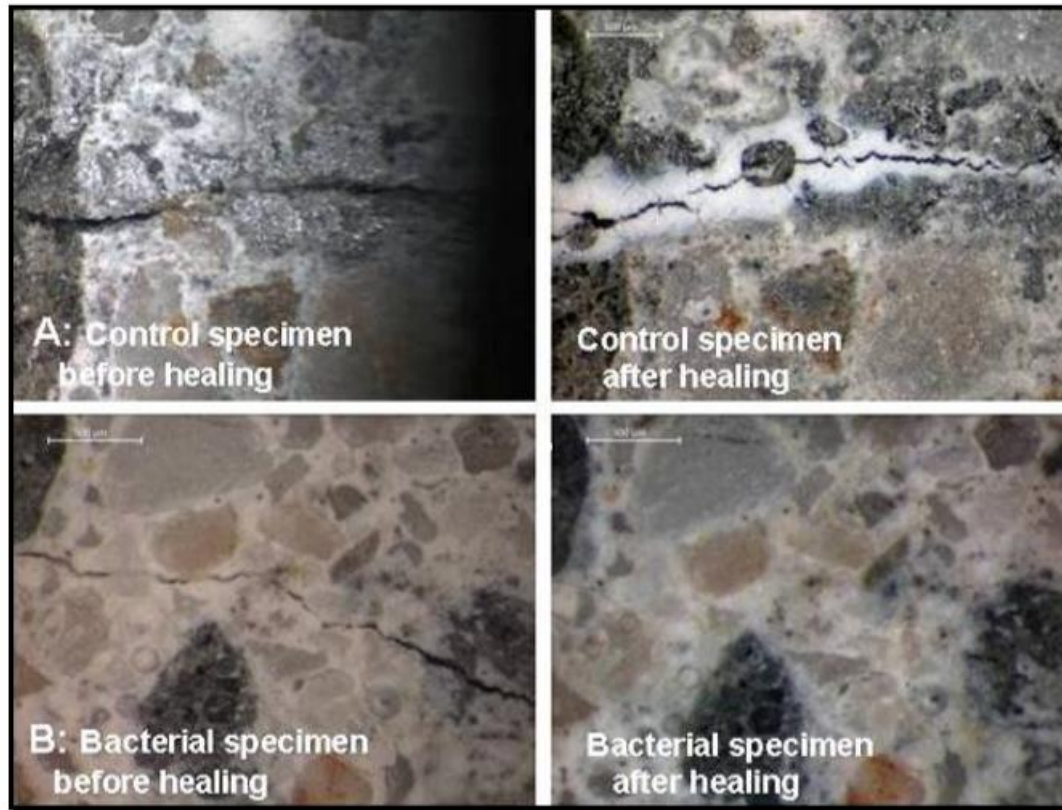
El bioconcreto, como su nombre lo indica es un tipo de concreto que depende de una parte biológica para su formación. En este caso, esta sería impulsada por bacterias que tienen la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio. Se ha visto que debido a estas características, las fisuras que se van formando a lo largo del tiempo en el concreto se pueden reparar por sí mismas. Como se puede observar en la Figura No.1, el proceso de auto-curado ocurre debido a que las bacterias van depositando el carbonato de calcio dentro de las fisuras hasta que estas quedan totalmente selladas (Passarini and Silva, 2017) .

El bioconcreto tiene la capacidad de activar las esporas bacterianas cuando el agua se filtra en las grietas que se forman en el concreto, haciendo que estas inicien su metabolismo permitiéndoles precipitar cristales de calcita por medio del ciclo del nitrógeno. Los cristales insolubles de carbonato de calcio en conjunto con el agua y los componentes de cemento presentes en la fisura forman concreto *de novo* que empieza a solidificarse sobre la superficie agrietada y esta se va sellando. Cabe mencionar que el consumo de oxígeno durante las reacciones metabólicas que las bacterias realizan al formar el carbonato de calcio, permite la detención de la corrosión del acero aumentando así la durabilidad de la estructura (Chaurasia *et al.*, 2014).

Algunos beneficios que trae la utilización de bioconcreto es que permite aumentar la resistencia mecánica de la pasta de cemento ya que este reducirá gran cantidad de los poros dejados por el exceso de agua que se requiere para trabajar el hormigón; tomando en cuenta que a menor número de poros, mayor es la resistencia del material ya terminado. El bioconcreto incide sobre la geometría de los poros, por lo tanto el área, perímetro y diámetro se ve afectado, incidiendo a su vez en la conductividad térmica afectando la durabilidad del material (Díaz, 2015).

Actualmente, se están realizando estudios con este producto donde se emplea este material de dos formas distintas: como material de cimentación o como capa superficial utilizada solo como protección. Según su uso, este material puede adoptar dos nombres distintos: bioconcreto, o biodeposición. En ambos casos, este tiene como objetivo disminuir los espacios de los poros del material de construcción y actuar en el caso que se produzca un cambio en la calidad del producto, como por ejemplo la aparición de fisuras. Es muy importante recalcar que la eficacia del bioconcreto está relacionada con la actividad enzimática de la cepa bacteriana y la composición del medio utilizado (Passarini and Silva, 2017).

Figura No. 1: Reparación de grietas en concreto por medio de bacterias precipitadoras de carbonato de calcio



(Jonkers, 2011).

Leyenda Figura No.1: Imágenes tomadas a través de microscopía de luz con aumento de 40 veces, en esta se muestran dos placas de concreto antes y después de ser tratadas para el sellamiento de grietas. A) placa de concreto usada como control negativo tratada con agua y arena. B) placa de concreto tratada con agua, arena y cepa bacteriana precipitadora de carbonato de calcio (Jonkers, 2011).

C. Bacterias de suelo

El suelo es un recurso vivo y dinámico que está compuesto de partículas de minerales de distintas formas y tamaños, material orgánico y un gran número de especies microbianas con morfología y fisiología distintas (Uribe, 1990). Este está compuesto de seis principales grupos de microorganismos: bacterias, actinomicetos, virus, hongos, algas y protozoos (Fierer *et al.*, 2007; Arrieta Rodríguez, 2011). Entre estos microorganismos, los que más destacan debido a su abundancia y diversidad son las bacterias. Se estima que existen alrededor de 10^8 a 10^9 microorganismos por gramo de suelo (Arrieta, 2011). A pesar que estas estimaciones son bastante constantes en los distintos de suelos y ambientes generales, existen muchas variables que influyen en la diversidad bacteriana del suelo. Algunas de estas variables son la humedad, aireación, temperatura, materia orgánica disponible, acidez y presencia de nutrientes inorgánicos. En algunos

casos puede afectar la temporada, si es un suelo con cultivos y la profundidad de los mismos (Valencia González *et al.*, 2015).

A pesar que algunos de los microorganismos presentes en el suelo pueden ser patógenos para los humanos; la mayoría de estos participan en procesos de descomposición y mineralización de residuos tanto vegetales como animales convirtiendo estos materiales orgánicos complejos en moléculas simples que pueden ser utilizados por plantas u otros organismos. Además, otro de los papeles importantes que juegan estos microorganismos, es que de ellos depende la estructura del suelo, por ejemplo el mucílago producido por las bacterias y las hifas de los hongos y actinomicetos contribuyen a mantener las partículas de suelo unidas (Uribe, 1990).

D. Biomineralización

La biomineralización es un proceso por el cual los procariontas y eucariontas producen minerales. Este proceso tiene dos catalizadores: el resultado de la actividad celular, la cual realiza los cambios fisicoquímicos que son necesarios para que se produzca la nucleación y posterior crecimiento del núcleo formado; y el aporte de superficies como la pared celular, membranas, restos de lisis, etc. que actúan como núcleos para que se lleve a cabo la cristalización disminuyendo la barrera energética necesaria para que se produzca la nucleación de la fase mineral (Jiménez-lópez, 2001).

Existen dos mecanismos distintos de biomineralización: la mineralización inducida biológicamente y la mineralización controlada biológicamente (Mann, 1995).

1. Mineralización inducida biológicamente (MIB)

Este proceso de biomineralización ocurre como consecuencia de cambios en la sobresaturación del sistema debido a la captación o excreción de distintos metabolitos, tomando en cuenta el aporte de núcleos de cristalización mencionados anteriormente, que favorecen a la precipitación del biomineral. La mayoría de las superficies celulares están cargadas negativamente, lo cual cataliza la unión de cationes por interacciones electrostáticas inespecíficas. Por esta razón, se incrementa localmente la sobresaturación del sistema ayudando a estabilizar las superficies de los biominerales que se están formando (Liu *et al.*, 2015)

2. Mineralización controlada biológicamente (MCB)

En este proceso de biomineralización, el organismo que la realiza ejerce un alto grado de control cristalocímico tanto sobre la nucleación como en el crecimiento de los biominerales. Estos minerales son

sintetizados en su mayoría dentro de las células bacterianas y, únicamente cuando estos microorganismos se encuentran en las condiciones apropiadas. Debido a que la biomineralización ocurre dentro de la célula, los cristales formados son de tamaño estrecho y contienen morfologías de partículas específicas y consistentes. Actualmente se cree que los procesos de MCB están bajo control bioquímico y por lo tanto, también bajo control genético (Bazylinski and Frankel, 2003).

En el caso de la precipitación de carbonato de calcio por medio de bacterias, es considerado como un método de mineralización inducida biológicamente. Para que este proceso sea llevado a cabo, se requiere de condiciones ambientales específicas (Brennan, Lowenstein and Horita, 2004).

a. Bacterias biomineralizadoras

Dado que la biomineralización es producto de algunos procesos metabólicos necesarios para que las bacterias puedan desarrollarse adecuadamente, muchas especies cuentan con esta capacidad. Además, la pared celular de las bacterias contiene lipopolisacáridos, los cuales son altamente aniónicos y están compuestos por O-polisacáridos, polisacáridos centrales y el lípido A. El lípido A cuenta con cadenas de ácidos grasos que son fuertemente hidrofóbicas y son ricas en grupos fosfatos que tienen gran afinidad por Mg^{2+} y Ca^{2+} ; mientras que el núcleo y las cadenas laterales O tienen residuos de ceto-desoxioctonato que proporcionan grupos carboxilato disponibles y que facilitan la formación de minerales (Frankel, 2005).

Existen un gran número de ejemplos de bacterias que realizan biomineralización inducida biológicamente. Los minerales carbonatados inducidos por bacterias a menudo se han reportado en una gran cantidad de especies bacterianas: cianobacterias, bacterias reductoras de sulfato, *Bacillus*, *Myxococcus* y *Pseudomonas* (Liu *et al.*, 2015). Además de los minerales carbonatados, también se han reportado bacterias reductoras de sulfato con la capacidad de formar sulfuros de hierro y cianobacterias que también pueden precipitar varios otros minerales principalmente óxidos de hierro y manganeso. (Beveridge *et al.*, 1992).

b. Bacterias precipitadoras de carbonato de calcio

La precipitación de carbonato de calcio es un proceso de biomineralización que es producido por ciertas especies bacterianas por medio de sus actividades metabólicas al estar en distintos ambientes naturales como: suelos, aguas dulces, océanos, lagos salinos, formaciones rocosas, etc. (Siddique and Chahal, 2011). Actualmente, se han reportado una gran variedad de bacterias que, a pesar que se encuentran en distintos nichos, cuentan con la capacidad de precipitar carbonato de calcio tanto *in situ*, como *in vitro*. Además, se ha observado que los factores abióticos como la salinidad y la composición del medio influyen en la variedad de formas de precipitación de carbonato de calcio en una amplia gama de ambientes (Dhimi *et al.*, 2012).

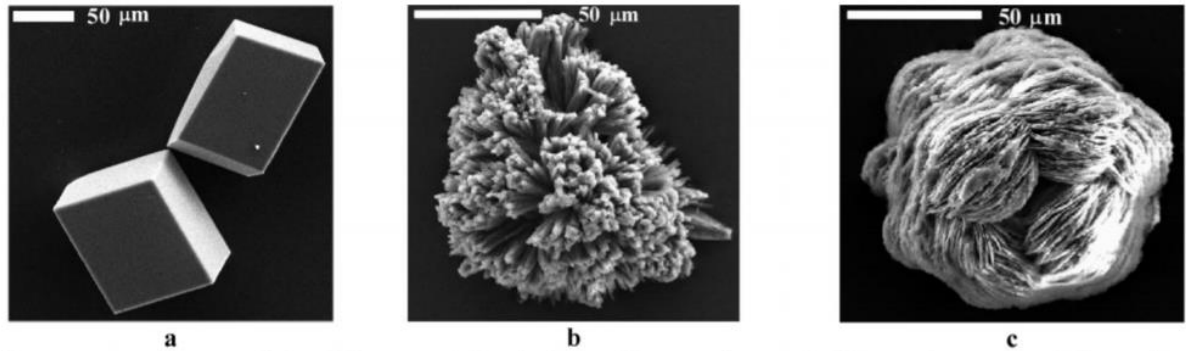
Para que las bacterias puedan llevar a cabo la precipitación de carbonato de calcio se requieren de 4 factores claves: la concentración de carbono inorgánico disuelto; el pH; la concentración de iones de calcio; y la presencia de sitios de nucleación o desarrollo de cristales para la nucleación. A pesar que estos 4 aspectos son indispensables para llevar a cabo la producción de carbonato de calcio, existen otros factores, menos críticos, como la temperatura y la salinidad de la suspensión que también pueden llegar a tener un efecto significativo sobre este proceso (Alberto *et al.*, 2015).

3. Mecanismos de producción del carbonato de calcio

El mecanismo preciso por el cual los microorganismos tienen la capacidad de precipitar carbonatos y otro tipo de minerales no es del todo conocido. Sin embargo, se cree que una gran diversidad de bacterias tiene la capacidad de precipitar minerales (Castanier, 1999). Este tipo de precipitados son un subproducto de procesos metabólicos microbianos, como la hidrólisis de urea y la reducción de sulfatos. Estos procesos tienen en común que aumentan el pH y el contenido de carbono inorgánico disuelto presente en el medio en el que se encuentran, promoviendo que se dé una precipitación de carbonato de calcio (Hammes *et al.*, 2003). Se cree que existen atributos específicos en ciertas bacterias que promueven y afectan la precipitación de carbonato de calcio: las paredes celulares favorecen la unión de cationes divalentes como Ca^{2+} y Mg^{2+} , lo cual hace que la superficie de los microorganismos sean sitios ideales para la nucleación de cristales. Inclusive, las sustancias poliméricas extracelulares también pueden ser un factor determinante durante la precipitación de carbonato ya que se cree que estos causan la formación de diferentes polimorfismos de carbonato de calcio (Frederik Hammes & Verstraete, 2002).

Como se puede observar en la Figura No.2, el carbonato de calcio producido por medio de bacterias puede tener tres tipos de polimorfismos cristalinos: la calcita, aragonita y vaterita. El polimorfo más común y estable es la calcita y se ha visto que la biomineralización de aragonito a menudo es metaestable. Es importante resaltar que la producción de los polimorfos de calcita, aragonita y vaterita dependen tanto de los entornos de crecimiento como de las cepas bacterianas (Rodríguez-Navarro *et al.*, 2012).

Figura No. 2: Tipos de polimorfismos de carbonato de calcio.



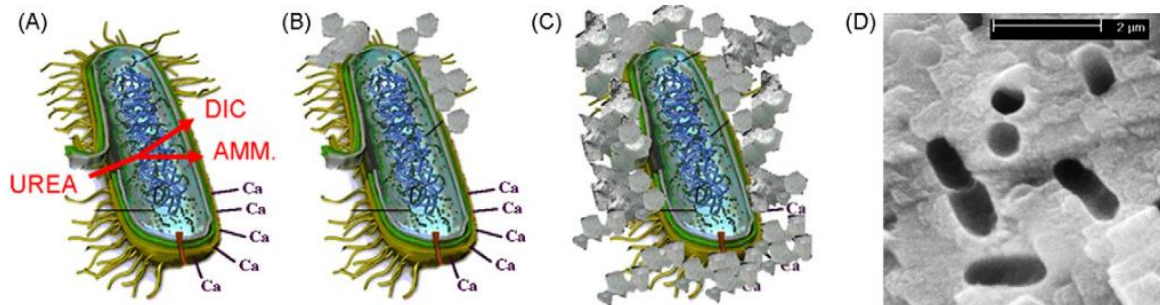
(Hernández-Hernández *et al.*, 2008).

Leyenda Figura No.2: Fotografías tomadas a través de microscopio electrónico de barrido. A) Calcita b) Aragonito c) Vaterita (Hernández-Hernández *et al.*, 2008).

Como se indicó anteriormente, la precipitación de carbonato de calcio se puede dar por la hidrólisis de urea. La enzima ureasa juega un papel muy importante para llevar a cabo este proceso. La ureasa actúa como catalizador para producir amonio y carbonato, dando como resultado un aumento en el pH y en la concentración de carbono alrededor de la bacteria (Mora, 2017).

En la Figura No.3, se muestra el proceso para que una bacteria ureolítica pueda realizar carbonato de calcio inducida microbiológicamente. Como se puede observar, primero los iones de calcio que están en el medio ambiente son atraídos por iones de carga negativa presente en la pared celular del microorganismo, cuando hay presencia de urea en el entorno bacteriano, se libera el carbono inorgánico disuelto y amonio. La presencia de los iones de calcio favorece a que haya una sobresaturación y la subsiguiente precipitación de carbonato de calcio en la pared bacteriana, seguido de esto la célula bacteriana se encapsula limitando la transferencia de nutrientes llevando a la muerte celular (De Muynck *et al.*, 2010)

Figura No. 3: Proceso de producción de carbonato de calcio de bacterias ureolíticas.



(De Muynck, De Belie and Verstraete, 2010).

Leyenda Figura No.3: En la figura a) se puede observar cómo los iones de calcio que están en el medio ambiente son atraídos por iones de carga presente en la pared celular. b) La célula bacteriana es rodeada por los cristales de carbonato de calcio producidos. c) La célula bacteriana es completamente encapsulada con el carbonato de calcio privándola de nutrientes haciendo que esta muera. d) Huellas creadas por las bacterias envueltas en carbonato de calcio (De Muynck, De Belie and Verstraete, 2010).

E. Quorum sensing

Las bacterias son conocidas por utilizar una gran variedad de moléculas de señalización que les ayuda a comunicarse entre las distintas comunidades celulares. Actualmente, se conoce que las lactonas de homoserina son las más utilizadas por las bacterias Gram negativas como moléculas de señalización, mientras que las Gram positivas utilizan péptidos pequeños, principalmente lipopéptidos. Estas moléculas de señal permiten que se dé la comunicación entre especies de forma específica. A este tipo de comunicación célula-célula bacteriana se le conoce como *quorum sensing* (Karlapudi *et al.*, 2016).

Se cree que este mecanismo juega un papel importante en el proceso de biomineralización de carbonato de calcio, por esta razón se realizó un estudio utilizando *Actinobacterium b.* de la línea celular BS258 con la cual se demostró que la precipitación y disolución de carbonato de calcio en su polimorfismo de calcita, está vinculada a las actividades de la anhidrasa carbónica, el *quorum sensing* y otros metabolismos de energía esencia (Zhu *et al.*, 2017).

F. Desechos industriales

Actualmente, el deterioro de los ecosistemas debido a la contaminación es un problema crítico. Se ha visto aumento de contaminantes en zonas costeras debido al vertimiento de desechos urbanos, agrícolas, mineros y portuarios. Esta contaminación desmedida con desechos principalmente industriales es una amenaza constante para la estabilidad de los ecosistemas, principalmente los sistemas acuáticos que son receptores de toda clase de desechos (Gómez, 2001).

1. Desechos de Moscamed

En 1975, en Guatemala, se detectó una plaga de la mosca de la fruta del Mediterráneo (*Ceratitis capitata*), el cuál promovió la formación de la Comisión Moscamed para la prevención, control y erradicación de esta plaga en el territorio guatemalteco. En 1977, el departamento de agricultura de los Estados Unidos

(USDA) se unió a la Comisión y los acuerdos del programa Medfly fueron creados (Linares and Valenzuela, 2013).

Dado que esta plaga es perjudicial para la producción y exportación de frutas, Moscamed utiliza varios mecanismos para manejar el problema, uno de los mecanismos más importantes, es la producción de machos estériles y su liberación a la vida libre para el control de la plaga (Ayala and Hormazábal, 2013). Como parte de sus procesos internos, las moscas hembras cuando ya no son utilizadas se muelen y se desechan (Linares and Valenzuela, 2013). Se ha visto que las moscas al igual que muchos insectos tienen quitina como componente principal de su citoesqueleto y que este puede ser utilizado para la formación de quitosano (Monter-Miranda *et al.*, 2016). Esta quitina y quitosano obtenido a través de los desechos de mosca pueden ser utilizados para muchas cosas, uno de estos usos es permitir la biomineralización de carbonato de calcio a través de bacterias (Cáceres, 2008).

G. Centro de Investigación y Desarrollo de Cementos Progreso

El centro de Investigación y desarrollo de cementos progreso, también conocido como CID, posee varias áreas de trabajo relacionadas con los negocios de Cementos Progreso, estas son: concreto, cemento, cal, infraestructura, predosificados, geología y la gestión del conocimiento. El CETEC es el laboratorio del CID en donde se ejecutan las funciones de asesoría, capacitación de clientes internos y externos, el aseguramiento de la calidad de los productos de la empresa y se lleva a cabo investigación. La importancia de los estudios que se realizan en esta institución se relacionan directamente con los requerimientos del mercado y de los clientes, además de explorar nuevos temas que buscan el desarrollo del país; ya que por ejemplo se realizan estudios para encontrar cementos con nuevas propiedades, de menor costo utilizando materias primas alternas. Por esta razón el estudio y producción del bioconcreto, representa un gran interés para este centro de investigación; ya que este relaciona los requerimientos del mercado y una forma sostenible de cubrir esta necesidad. (Velásquez, 2019).

V. Metodología

Figura No. 4: Esquema de metodología

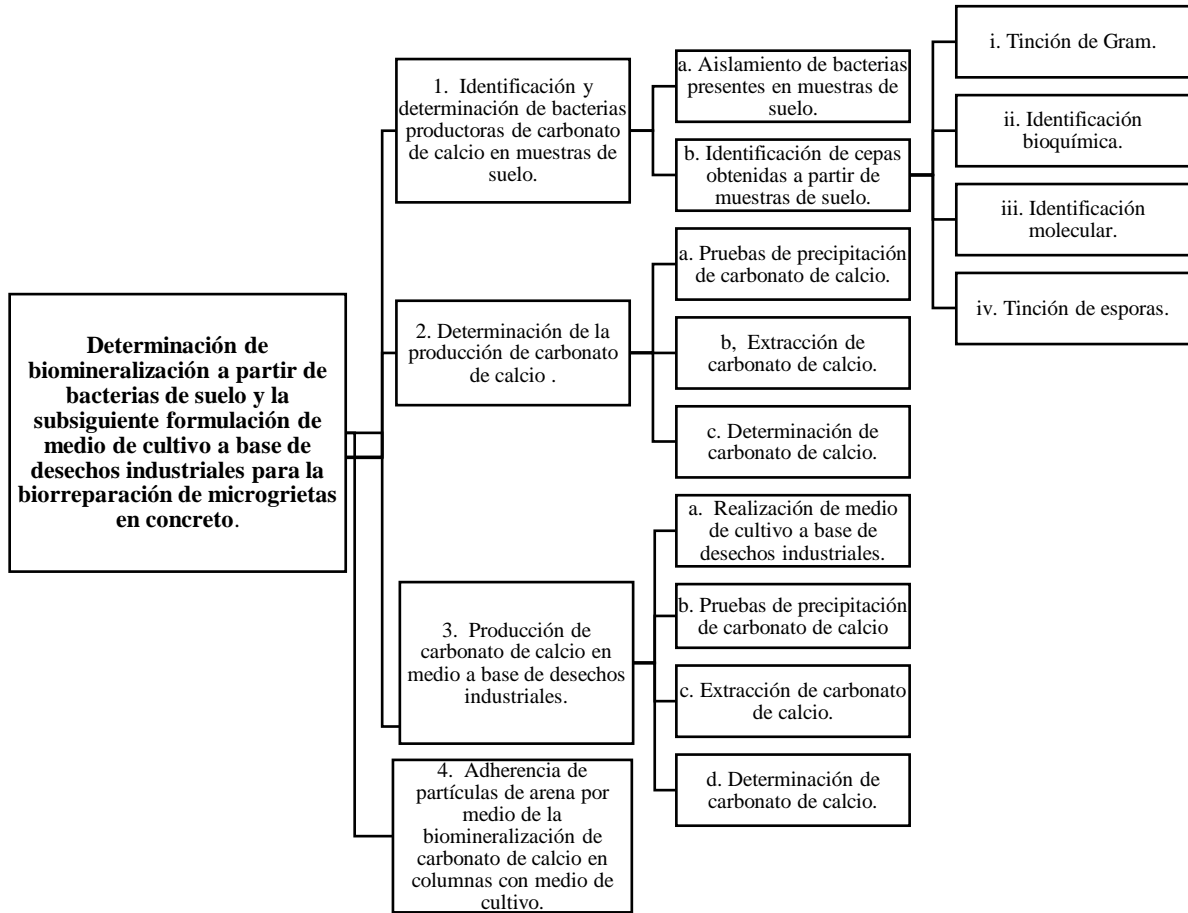
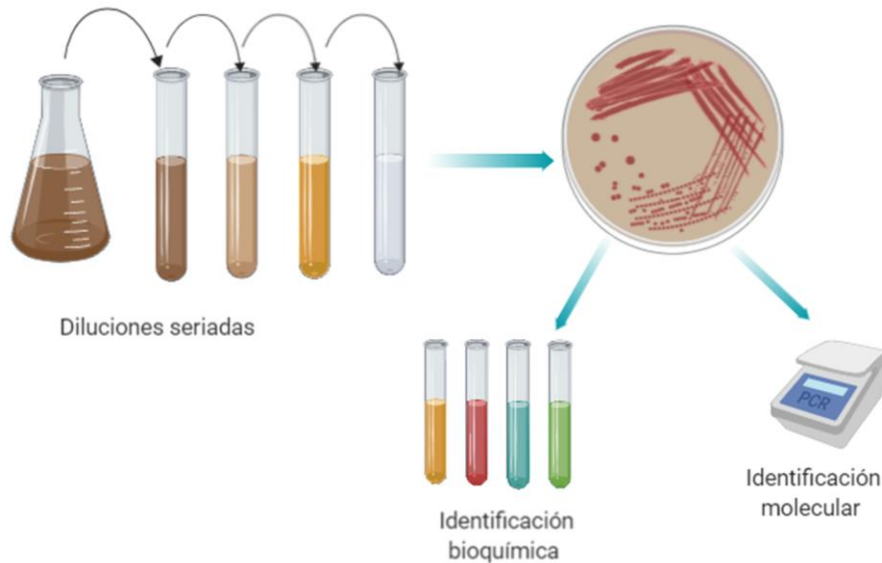


Figura No.5: Esquema de metodología para la identificación bioquímica y molecular de las bacterias productoras de carbonato de calcio provenientes de muestras de suelo.



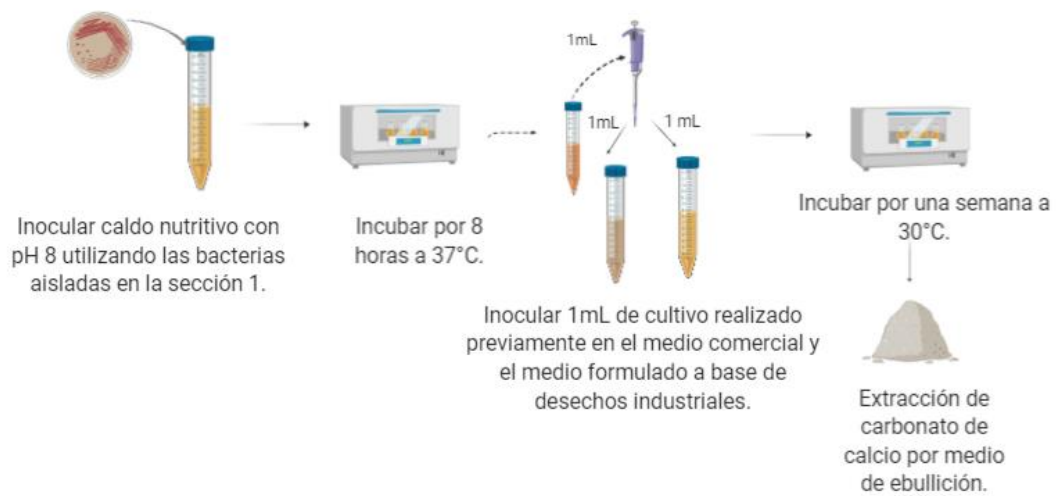
Leyenda Figura No.5: en esta figura se muestra la metodología utilizada para llevar a cabo la identificación bioquímica y molecular de las bacterias productoras de carbonato de calcio provenientes de muestras de suelo. La figura fue realizada a través del programa Biorender, trabajo de la autora.

Figura No.6: Esquema de metodología para la formulación de un medio de cultivo a base de desechos industriales.



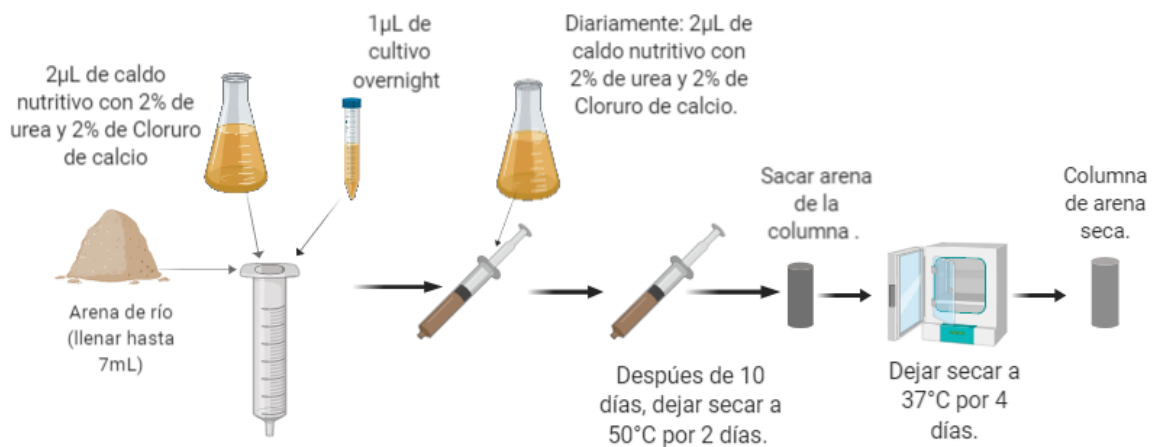
Leyenda Figura No.6: en esta figura se muestra la metodología utilizada para la formulación de un medio de cultivo a base de desechos industriales. La figura fue realizada a través del programa Biorender, trabajo de la autora.

Figura No.7: Esquema de metodología para realizar las pruebas de precipitación de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y el formulado.



Legenda Figura No.7: en esta figura se muestra la metodología utilizada para realizar las pruebas de precipitación de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y el formulado. La figura fue realizada a través del programa Biorender, trabajo de la autora.

Figura No.8: Esquema de metodología para probar la capacidad bacteriana de biomineralización en columnas de arena.



Legenda Figura No.8: en esta figura se muestra la metodología utilizada para probar la capacidad bacteriana de biomineralización en columnas de arena. La figura fue realizada a través del programa Biorender, trabajo de la autora.

A. Sitio de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Guatemala, Guatemala en las instalaciones de la Universidad del Valle de Guatemala: Laboratorio del Departamento de Bioquímica y Microbiología y el laboratorio del Centro de Estudios en Biotecnología.

B. Sujetos de estudio

Los sujetos de estudio fueron bacterias de suelo productoras de carbonato de calcio. Obtenidas de la cementera de Cementos Progreso ubicada en Sanarate, El Progreso.

C. Enfoque, diseño y tipo de investigación

Esta investigación tuvo un enfoque de modelo combinado dominante, siendo el enfoque cuantitativo el dominante, y un diseño experimental verdadero.

D. Tipo y tamaño de muestra

Se utilizaron muestras de suelo (100ml de tierra) muestreada de manera no probabilística por conveniencia; y muestras de pulpa de mosca muestreada de manera no probabilística por conveniencia (20 gramos).

E. Criterios de inclusión y exclusión

Se excluyeron las bacterias aisladas de las muestras de suelo que fueron ureasa negativas y patogénicas según su identificación molecular.

F. Variables

Cuadro No. 1: Variables para la determinación de bacterias productoras de carbonato de calcio en muestras de suelo

Variable	Definición	Tipo	Unidades de medición
Temperatura	Temperatura de la incubadora para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	°C
Tiempo	Tiempo de crecimiento de las bacterias.	Cuantitativo	Horas
Aeración	Cantidad de oxígeno disponible en el medio para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	cm ³
Ureasa	Bacterias con capacidad de producir ureasa.	Cualitativo	Positivo / negativo

Cuadro No. 2: Variables para la determinación de la producción de carbonato de calcio.

Variable	Definición	Tipo	Unidades de medición
Temperatura	Temperatura de la incubadora para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	°C
Tiempo	Tiempo de crecimiento de las bacterias.	Cuantitativo	Horas
Aeración	Cantidad de oxígeno disponible en el medio para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	cm ³
Velocidad de agitación	Velocidad del shaker.	Cuantitativo	RPM
Presencia de precipitado	Precipitado de carbonato de calcio	Cualitativo	Presente/ ausente
Carbonato de calcio	Precipitado de carbonato de calcio.	Cuantitativo	g

Cuadro No. 3: Variables para la producción de carbonato de calcio en medio a base de desechos industriales.

Variable	Definición	Tipo	Unidades de medición
Temperatura	Temperatura de la incubadora para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	°C
Tiempo	Tiempo de crecimiento de las bacterias.	Cuantitativo	Horas
Aeración	Cantidad de oxígeno disponible en el medio para el crecimiento bacteriano.	Cuantitativo	cm ³
Velocidad de agitación	Velocidad del shaker.	Cuantitativo	RPM
Presencia de precipitado	Precipitado de carbonato de calcio	Cualitativo	Presente / ausente
Carbonato de calcio	Precipitado de carbonato de calcio.	Cuantitativo	g

G. Hipótesis

Hi:

- **El medio formulado a base de desechos industriales cuenta con la capacidad de permitir el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio, mostrando una diferencia significativa entre la producción de carbonato de calcio en un medio comercial y el formulado al estar en contacto con una bacteria de suelo presente en una muestra tomada en la cementera de CEMPRO con la capacidad de producir ureasa para la biomineralización de carbonato de calcio siendo *Bacillus* sp., haciendo posible la adherencia de partículas de arena entre sí al estar en una columna.**

Ha:

- Al menos una bacteria aislada de muestras de suelo de la cementera de CEMPRO con la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio es *Bacillus* sp. y cuenta con la capacidad de producir ureasa.

Ho:

- Ninguna de las bacterias aisladas de muestras de suelo de la cementera de CEMPRO con la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio es *Bacillus* sp. y cuenta con la capacidad de producir ureasa.

Ha:

- El medio formulado a base de desechos industriales cuenta la capacidad de permitir el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.

Ho:

- El medio de cultivo formulado a base de desechos industriales no cuenta con la capacidad de permitir el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.

Ha:

- Existe una diferencia significativa en la biomineralización de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y un medio de cultivo a base de desechos industriales.

Ho:

- No existe una diferencia significativa en la biomineralización de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y un medio de cultivo hecho a base de desechos industriales.

Ha:

- Al menos una de las bacterias aisladas va a permitir la adherencia de las partículas de arena al estar en una columna con el medio de cultivo.

Ho:

- Ninguna de las bacterias aisladas va a permitir la adherencia de las partículas de arena al estar en una columna con el medio de cultivo.

H. Viabilidad

Para llevar a cabo este estudio se contó con la autorización del departamento de Bioquímica y Microbiología de la Universidad del Valle de Guatemala, de utilizar las instalaciones de laboratorio del departamento para llevar a cabo la parte microbiológica de este estudio. Además, se contó con el apoyo de Cementos Progreso para tener acceso a muestras de suelo de la cantera ubicada en Sanarate.

Cabe mencionar que la metodología y análisis que se emplearon para poder cumplir con los objetivos descritos anteriormente, son de mi conocimiento o cuento con asesores que conocen a profundidad los métodos a realizar.

I. Materiales y métodos

1. Identificación bioquímica y molecular de las bacterias con capacidad de realizar biomineralización de carbonato de calcio, provenientes de muestras de suelo.

a. Aislamiento de bacterias presentes en muestras de suelo

1) Dilución de muestras de suelo

Se prepararon las diluciones de las muestras de la siguiente manera:

- Se preparó 600mL de caldo tripticasa soya con 1% de urea.
- Se pesó 10 gramos de muestra de suelo y diluirla en 90 ml de caldo de tripticasa soya con urea.
- Se mezcló utilizando vortex para diluir la muestra lo mejor posible.
- Se incubó a 37°C con agitación leve durante 24 horas.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya *et al*, 2015).

2) Dilución seriada de muestras y plaqueo de muestras

Se procedió de la siguiente manera:

- Se realizó el agar y el caldo tripticasa soya según indica el fabricante, agregando 1% de urea y midiendo con un potenciómetro para obtener un pH de 8.
- Se colocaron 9mL de caldo tripticasa soya con 1% de urea y pH8 en tubos cónicos de 15 ml.
- Se inoculó con 1mL de muestra de cultivo de muestra de suelo luego de 24 horas de ser incubadas, para hacer una solución madre.
- Se realizó una dilución seriada hasta obtener soluciones de 10^{-6} .
- Se colocaron 25mL de agar nutritivo con 1% de urea y pH 8 en placas de Petri. Una vez gelificados, inocular con un 1mL de solución de 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ; para las diferentes placas.
- Se incubó por 24 horas.

Esta metodología fue modificada de (Moreno and Velaverde, 2016).

3) Aislamiento de colonias bacterianas

Se aislaron las colonias bacterianas de la siguiente manera:

- Se realizó el agar según indica el fabricante, agregando 1% de urea y midiendo con un pHmetro para obtener un pH de 8.
- Se colocaron 25mL de agar nutritivo con 1% de urea y pH 8 en placas de Petri. Una vez gelificados, inocular con utilizando un asa de aro para realizar el estriado.
- Se incubó por 24 horas.

Esta metodología fue modificada de (Moreno and Velaverde, 2016).

b. Identificación de cepas obtenidas a partir de muestras de suelo

1) Tinción de Gram

Se realizaron las tinciones de Gram de la siguiente manera:

- Se colocó una gota de agua destilada sobre un cubreobjetos y añadirle una colonia bacteriana utilizando un asa de aro. Asegurarse de esparcirlo lo suficiente.
- Se dejó secar y fijar con calor utilizando el mechero.
- Se agregó cristal violeta sobre la muestra y dejar durante un minuto sobre esta.
- Se lavó el cristal violeta de la muestra, utilizando agua destilada, sin agregarla directamente sobre la muestra.
- Se agregó Lugol sobre la muestra y dejar durante un minuto sobre esta.

- Se enjuagó el Lugol de la muestra, utilizando agua destilada, sin agregarla directamente sobre la muestra.
- Se agregaron de 2 a 3 gotas de alcohol- acetona y esperar entre 5 y 30 segundos.
- Se lavó el alcohol-acetona utilizando agua destilada, sin agregarla directamente sobre la muestra.
- Se agregó safranina sobre la muestra y esperar durante 1 minuto.
- Se enjuagó la safranina de la muestra, utilizando agua destilada, sin agregarla directamente sobre la muestra.
- Se dejó secar la muestra y observar en microscopio.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

2) Realización de pruebas bioquímicas

Se realizaron las pruebas bioquímicas de la siguiente manera:

a) Prueba de oxidación y fermentación de azúcares

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular en medio OF pinchando una sola vez en el centro.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
 - o Resultado positivo: cambió de color verde a amarillo en el medio.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

b) Prueba de Voges-Proskauer y rojo de metilo

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular un tubo con caldo Voges-Proskauer.
- Se incubó a 36 C por 24 horas.
- Se pasaron 2.5 mL a otro tubo y agregar 5 gotas de rojo metilo.
- En el tubo original se agregaro 6 gotas de alfa naftol y esperar 15 minutos
 - o Resultado positivo:
 - Voges-Proskauer: medio color rojo o rosado.
 - Rojo de metilo: indicador permaneció color rojo.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

c) Prueba de citrato

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular en el medio de citrato pinchando una sola vez en el centro y realizando un estriado en el slant.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
 - Resultado positivo: El indicador cambió de color verde a azul.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

d) Prueba de SIM e indol

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular en el medio SIM pinchando una sola vez en el centro.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
- Se evaluó la motilidad. Fue positivo si hubo dispersión del crecimiento hacia los lados donde se realizó el inóculo.
- Se agregaron 5 gotas de reactivo de Kovac.
 - Resultado positivo: Anillo rojo o rosado en la superficie.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

e) Prueba hierro tres azúcares

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular en el medio pinchando una sola vez en el centro y estriando en el slant.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
 - Resultado positivo:
 - Fermentación de glucosa: slant rojo y fondo amarillo.
 - Fermentación de glucosa y otro azúcar: slant y fondo amarillo.
 - Fermentación de ningún azúcar: slant y fondo rojo.
 - Producción de gas: burbujas o rompimiento de medio.
 - Producción de H₂S: fondo o precipitado negro.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

f) Hierro lisina

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.

- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular pinchando tres veces el medio y estriando en el slant.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
 - o Resultado positivo:
 - Descarboxilación de lisina: slant y fondo morado.
 - Desaminación de lisina: slant rojo y fondo amarillo.
 - Producción de gas: burbujas o rompimiento de medio.
 - Producción de H₂S: fondo o precipitado negro

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

g) Prueba de ureasa

- Se seleccionó una colonia aislada del cultivo realizado.
- Se picó la colonia con un asa en punta e inocular en el medio pinchando una sola vez el centro y estriando en el slant.
- Se incubó a 36°C por 24 horas.
 - o Resultado positivo: Cambio del medio a color rosado.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

h) Prueba de catalasa

- Se colocó en un portaobjetos una gota de H₂O₂ al 30%.
- Se utilizó un palillo para transferir una colonia a la gota.
 - o Resultado positivo: Producción de gas.

Se utilizó la metodología descrita por (Benavides and Hermida, 2008).

3) Identificación molecular

a) Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN de la siguiente manera:

- En un tubo de 1.5 ml libre de nucleasas se agregó 200µL de cultivo bacteriano.
- Se agregó 200µL de tampón de unión.
- Se agregó 40µL de proteinasa K reconstituida.
- Se mezcló y se incubó por 10 minutos a +70°C
- Se agregaron 100µL de isopropanol y se mezcló.
- Se inserto una columna de alta pureza en un tubo de recolección y se agregó la muestra en el reservorio para tampón de la parte superior de la columna.
- Se centrifugó por 1 minuto a 8,000 g.

- Luego de la centrifugación se retiró la columna del tubo de recolección.
 - Se eliminó el tubo de recolección y la solución recuperada.
 - La columna se combinó con un nuevo tubo de recolección y se agregaron 500µL de tampón de remoción de inhibidor en el depósito superior de la columna.
 - Se centrifugó 1 minuto a 8,0000 g.
 - Se retiró la columna del tubo de recolección.
 - Se eliminó el tubo de recolección y la solución recuperada.
 - La columna se combinó con un nuevo tubo de recolección y se agregaron 500 µL de tampón de lavado en el depósito superior de la columna.
 - Se centrifugó 1 minuto a 8,0000g.
 - Se eliminó el tubo de recolección y la solución recuperada.
 - La columna se combinó con un nuevo tubo de recolección y se agregaron 500 µL de tampón de lavado en el depósito superior de la columna.
 - Se centrifugó 1 minuto a 8,0000g.
 - Se realizó una centrifugación extra de 10 segundos a máxima velocidad.
 - Para eluir el ADN se combinó la columna con un tubo limpio y esteril de 1.5mL.
 - Se agregaron 200µL de tampón de elución previamente calentado a +70°C en el depósito superior de la columna.
 - Se centrifugó 1 minuto a 8,000g.
 - Se eliminó la columna y la solución de ADN se almacenó a 4°C hasta su uso.
- Se utilizó la metodología descrita por (Roche Diagnostics Group, 2008).

b) PCR

- Se preparó el master mix (usando el kit de PCR : Platinum II Taq Hot-Start DNA Polymerase)

Componente	Cantidad
Hot start Platinum II	10µL
Potenciador	4µL
Cebador directo (27_F) 10X	0.4 µL
Cebador reverso (1492_R)10X	0.4 µL
Agua libre de nucleasas	4.2 µL
Volumen total	19 µL

- Se agregó 1 µL de ADN extraído anteriormente al tubo con los reactivos anteriormente descritos. Se mezcló succionando y soltando el reactivo con la pipeta,

lentamente evitando la formación de burbujas. El volumen final de la reacción fue de 20µL.

- Condiciones de PCR:

Desnaturalización inicial: 1 ciclo	3 minutos a 94°C
Desnaturalización: 10 ciclos	1 minuto a 94°C
Alineamiento: 10 ciclos	1 minuto a 52°C
Extensión: 10 ciclos	2 minutos a 72°C
Extensión final: 1 ciclo	5 minutos a 72°C
Mantener	4°C

Se realizaron modificaciones de la metodología descrita por (Invitrogen, 2018).

c) Determinación de presencia del gen 16S amplificado

- Se realizó una electroforesis en gel de agarosa 0.8% en tampón TBE; se calentó la mezcla en microondas hasta que estuvo cristalino.
- Dejó que la temperatura disminuya y se agregó 2 microL de bromuro de etidio a una concentración de 10mg/ml y se colocó el gel en la canasta con el peine para que polimerizara.
- Se colocó el gel en la cámara de electroforesis.
- Se cargó el gel adicionando 6 microL de tampón de carga 6X a cada 5 microL de muestra de producto de PCR y 5 microL de escalera de ADN Trakit de 100pb.
- Se corrió el gel de 6cm de largo a 100V por 30 minutos.
- Se vio el gel en el transiluminador.

Se utilizó la metodología descrita por (Laboratorio de Genómica Viral y Humana Facultad de Medicina USALP, 2008).

d) Secuenciación.

- Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar a los Estados Unidos a Macrogen, donde se realizaron dos reacciones por cada una de las muestras.

4) Tinción de esporas

Se realizó la tinción de esporas de la siguiente manera:

- Se colocó una gota de agua destilada sobre un portaobjetos y se añadió una colonia bacteriana utilizando un asa de aro y se esparció hasta obtener un frotis adecuado.
- Se dejó secar y fijar con calor utilizando el mechero.
- Se tiñó con verde malaquita. Con ayuda de unas pinzas se colocó la muestra encima de la llama del mechero de forma que el colorante humeó durante 5 min. Para evitar que la muestra se quemara fue necesario asegurarse que la muestra siempre estuviera húmeda utilizando más colorante.
- Se lavó con abundante agua el exceso de colorante.
- Se añadió safranina y se esperó por un minuto.
- Se lavó con abundante agua el exceso de colorante.
- Se dejó secar la muestra y se observó en microscopio.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya, Babu and G, 2015).

2. Determinación de la producción de carbonato de calcio.

a. Pruebas de precipitación de carbonato de calcio

Para llevar a cabo las pruebas de precipitación se procedió de la siguiente manera:

- Se agregaron 9 mL de caldo nutritivo con 2% de urea y cloruro de calcio en tubos cónicos de 15mL.
- Se midió los OD600 para cada uno de los cultivos overnight de las bacterias obtenidas de las muestras (se utilizaron a 0.45).

Bacteria (Código)	OD600	Conteo de células en 50µL de caldo nutritivo
P.1.1	0.45	9.7
P.2.2A	0.45	35
P.2.2B	0.45	39
P.4.1A	0.45	8
P.4.1B	0.45	19
P.5.2A	0.45	4
P.5.2B	0.45	33
P.5.2C	0.45	10
P.5.3A	0.45	19
P.5.3B	0.45	2
P.6.1	0.45	33

- Se inoculó caldo nutritivo utilizando 1mL de caldo con muestras de bacterias.
- Se incubó en condiciones de agitación (a 130 rpm) a 30 ° C durante 7 días.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya, Babu and G, 2015).

b. Extracción de carbonato de calcio

Para extraer el carbonato de calcio se procedió de la siguiente manera:

- Se hirvió por 15 minutos los tubos de 15ml resultantes de la sección 2 (a).
- Se centrifugó por 8 minutos a 4°C.
- Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet con agua destilada.
- Se evaporó la solución resultante utilizando un vidrio de reloj y una estufa.
- Se raspó el precipitado seco en el vidrio de reloj utilizando una espátula y se almacenó en tubos eppendorf de 1.5ml.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya, Babu and G, 2015).

c. Determinación de Carbonato de Calcio

- Los tubos eppendorf con el precipitado seco se enviaron al laboratorio de análisis instrumental avanzado de la Universidad del Valle de Guatemala donde se hizo un análisis en FTIR.

3. Formulación del medio de cultivo a base de desechos industriales que permita el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.

a. Realización de medio de cultivo a base de desechos industriales.

- Se pulpa de mosca hervida por 10 minutos en agua destilada como medio de cultivo.

b. Pruebas de precipitación de carbonato de calcio

Para realizar las pruebas de precipitación de carbonato de calcio utilizando el medio de cultivo a base de desechos industriales se procedió de la siguiente manera:

- Se agregó 9 mL de medio de cultivo a base de desechos industriales en tubos cónicos de 15mL.
- Se midieron los OD600 para cada uno de los cultivos overnight de las bacterias obtenidas de las muestras.
- Se inoculó el medio de cultivo utilizando 1mL de caldo con muestras de bacterias.
- Se incubó en condiciones de agitación (a 130 rpm) a 30 ° C durante 7 días.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya, Babu and G, 2015).

c. Extracción de carbonato de calcio

Para la extracción de carbonato de calcio se procedió de la siguiente manera:

- Se hirvió por 15 minutos los tubos de 15ml resultantes de la sección 4(b).
- Se centrifugó por 8 minutos a 4°C.

- Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet con agua destilada.
- Se evaporó la solución resultante utilizando un vidrio de reloj y una estufa.
- Se raspó el precipitado seco en el vidrio de reloj utilizando una espátula y se almacenó en tubos eppendorf de 1.5ml.

Esta metodología fue modificada de (Krishnapriya, Babu and G, 2015).

d. Determinación de carbonato de calcio

- Los tubos eppendorf con el precipitado seco fueron enviados al laboratorio de análisis instrumental avanzado de la Universidad del Valle de Guatemala donde se hizo un análisis en FTIR.

e. Productividad de carbonato de calcio

Para determinar la productividad de carbonato de calcio se procedió de la siguiente manera:

- Se agregaron 15 mL de caldo realizado a base de desechos industriales en un tubo de vidrio de 20 mL y se inocularon con una colonia de muestra bacteriana.
- Se incubó la muestra y luego se mido el macfarland, cada 2 horas por una semana.
- Se realizó una curva con la productividad bacteriana de carbonato de calcio, para luego realizar una comparación para observar que bacteria produce mayor cantidad de carbonato de calcio tomando en cuenta la cantidad de precipitado de carbonato de calcio de cada bacteria, obtenido en el ensayo anterior 4(c).

Esta metodología fue modificada de (Angulo-cortés *et al.*, 2012)

4. Adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio en columnas con medio de cultivo.

Para comprobar la adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio se procedió de la siguiente manera:

- Se utilizaron jeringas para elaborar columnas, estas se llenaron con arena hasta la marca de 7mL.
- Se agregó 1 µL de caldo nutritivo pH8 con bacterias aisladas con 8horas de incubación a cada una de las columnas de arena.
- Diariamente se agregaron 2 µL de caldo nutritivo con 2% de urea y 2% de cloruro de calcio durante 10 días.
- Las columnas se incubaron en todo momento a temperatura ambiente.
- Después de los 10 días, se pusieron a secar las columnas a 50°C por 2 días.
- Se sacaron las columnas de arena de las jeringas y se secaron a 37°C por 4 días.

Esta metodología fue modificada de (Dhami *et al.*, 2017)

J. Plan de análisis de los datos y presentación de resultados

1. Identificación y determinación de bacterias productoras de carbonato de calcio en muestras de suelo.

- Se presentará un cuadro con la especie del microorganismo y el sitio de muestreo donde fue encontrado.

2. Determinación de la producción de carbonato de calcio.

- Se analizarán los precipitados obtenidos con el equipo FTIR, se presentarán como resultados los espectros IR obtenidos.
- Se pesarán los precipitados y se detallarán en un cuadro.

3. Producción de carbonato de calcio en medio a base de desechos industriales.

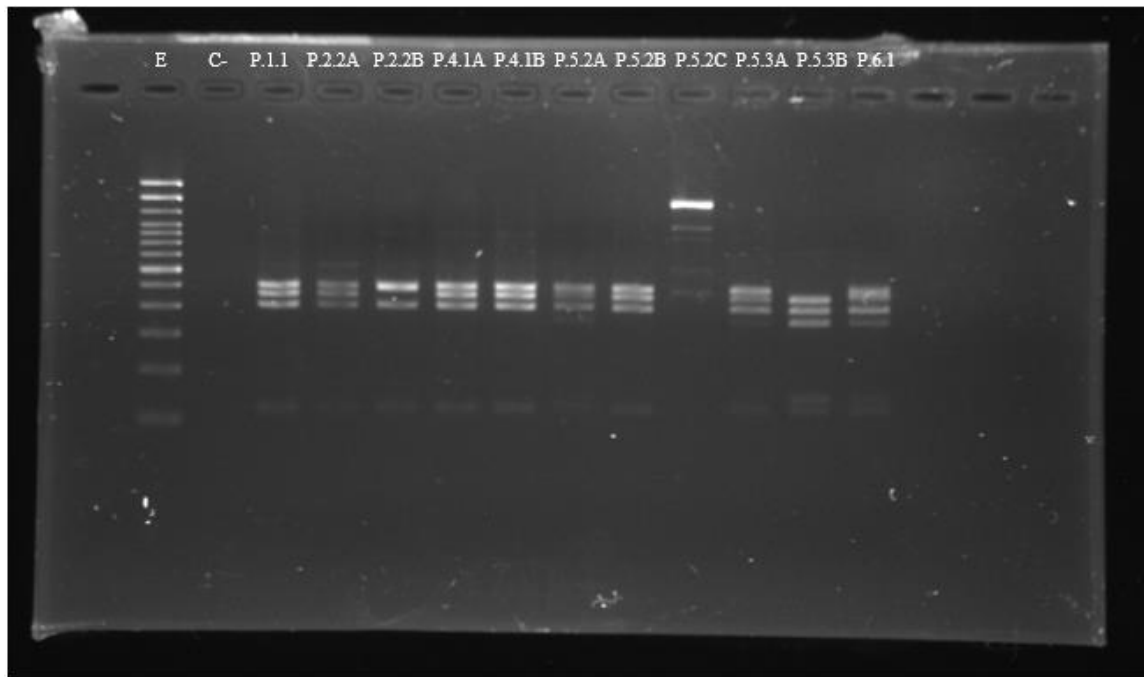
- Se analizarán los precipitados obtenidos con el equipo FTIR, se presentarán como resultados los espectros IR obtenidos.
- Se pesarán los precipitados y se detallarán en un cuadro.
 - Se realizará una prueba T para comparar la producción de carbonato de calcio para el medio comercial y el medio a base de desechos industriales.

VI. Resultados

A. Identificación bioquímica y molecular de las bacterias con capacidad de realizar biomineralización de carbonato de calcio, provenientes de muestras de suelo.

Se aislaron 11 cepas bacterianas de muestras de suelo extraídas de 6 puntos distintos de la cantera de Cementos progreso en Sanarate, El Progreso. A estas sepas se les realizaron tinciones de Gram y de esporas para observar su morfología y su capacidad de formar endosporas, así como la secuenciación de la región 16S de cada una de las cepas. Los resultados obtenidos para cada uno se pueden observar en el Cuadro No.4. A partir de estas características y de la secuenciación de se determinó el género de las cepas encontradas y apartir de un análisis de secuencias utilizando la enzima de restricción RsaI, se pudieron hacer estimaciones de la similitud entre las cepas encontradas. El gel con los productos de PCR digeridos por la enzima se pueden observar en la Figura No.9.

Figura No. 9: Gel de electroforesis de productos de digestión con enzima RsaI.



Leyenda Figura No.5: En esta imagen se muestra un gel de agarosa al 2% con los productos de PCR de las 11 cepas bacterianas extraídas de las muestras de tierra de la cantera de Cementos Progreso, a las que se les hicieron una digestión enzimática. Debido a la diferencia en los fragmentos, se puede observar que hay 8 diferentes secuencias. Para cargar el gel se utilizó el mapa de carga presente en el Cuadro No.7.

Cuadro No. 4: Identificación de cepas bacterianas extraídas de muestras de suelo.

Código	Tipo de muestra	Gram	Morfología	Formación de esporas	Género
P.1.1	Piedra	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P.2.2 A	Jardín	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P.2.2 B	Jardín	+	Cocos	Sí	Determinar molecularmente*
P. 4.1 A	Tablas de cantera	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P. 4.1 B	Tablas de cantera	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P.5.2 A	Jardín de cantera	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P. 5.2B	Jardín de cantera	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P. 5.2 C	Jardín de cantera	+	Cocos	Sí	<i>Staphylococcus</i> sp.
P. 5.3 A	Jardín de cantera	+	Bacilos	Sí	<i>Lysinibacillus</i> sp.
P. 5.3 B	Jardín de cantera	-	Bacilos	Sí	<i>Bacillus</i> sp. / <i>Lysinibacillus</i> sp.
P. 6.1	Suelo de cantera	+	Bacilos	Sí	Bacillales sin clasificar *

Leyenda Cuadro No.4: En este cuadro se muestran los códigos de las bacterias aisladas de los distintos puntos de muestreo en la cantera de Cementos progreso; así como la identificación morfológica de cada una de ellas, hasta determinar el género al que pertenecen.

*Se necesita secuenciación del 16S para determinar el género al que pertenece.

B. Producción de carbonato de calcio en medio de cultivo formulado a base de desechos industriales y medio de cultivo comercial.

Las 11 bacterias aisladas de las muestras de suelo fueron sometidas a pruebas de precipitación de carbonato de calcio tanto en un medio comercial como en el formulado a base de desechos industriales. Como se puede observar en el Cuadro No.5, la bacteria *Lysinibacillus* sp. (P. 5.3 A) mostró una mayor producción de carbonato de calcio al estar en un medio comercial, sin embargo, al estar en un medio de cultivo de desechos industriales, la bacteria que presentó la mayor productividad es la *Lysinibacillus* sp. (P.2.2 A) y la cepa perteneciente al orden Bacillales (P.6.1).

Para determinar si existía una diferencia significativa entre los medios de cultivo utilizados se realizó una prueba de Mann- Whitney para poblaciones que no cuentan con una distribución normal, a cada una de las bacterias en cada tratamiento. Se pudo notar en este cuadro que el valor p es menor o igual a 0.05, por lo que se rechazó la hipótesis nula, y por esta razón se pudo decir que sí existe una diferencia significativa en

la producción de carbonato de calcio usando un medio de cultivo comercial y uno formulado a base de desechos industriales.

Cuadro No. 5: Capacidad bacteriana de biomineralizar carbonato de calcio en un medio de cultivo comercial y uno a base de desechos industriales.

Código	Género	Media de producción de carbonato de calcio en medio comercial \pm desviación estándar (g)	Media de producción de carbonato de calcio en medio a base de desechos \pm desviación estándar (g)	Valor p
P.1.1	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0170 \pm 0.0066	0.0007 \pm 0.0003	0.05
P.2.2 A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0163 \pm 0.0017	0.0008 \pm 0.0004	0.05
P.2.2 B	Determinar molecularmente*	0.0155 \pm 0.0049	0.0007 \pm 0.0003	0.05
P. 4.1 A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0385 \pm 0.0136	0.0005 \pm 0.0002	0.05
P. 4.1 B	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0295 \pm 0.0079	0.0005 \pm 0.0002	0.038
P.5.2 A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0345 \pm 0.0180	0.0007 \pm 0.0003	0.05
P. 5.2B	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0122 \pm 0.0045	0.0006 \pm 0.0002	0.05
P. 5.2 C	<i>Staphylococcus</i> sp.	0.0126 \pm 0.0010	0.0007 \pm 0.0002	0.05
P. 5.3 A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0393 \pm 0.0181	0.0007 \pm 0.0001	0.038
P. 5.3 B	<i>Lysinibacillus</i> sp. / <i>Bacillus</i> sp.	0.0211 \pm 0.0043	0.0005 \pm 0.0001	0.05
P. 6.1	Bacillales sin clasificar*	0.0251 \pm 0.0053	0.0008 \pm 0.0003	0.05

Leyenda Cuadro No.5: En este cuadro se muestran las medias de los pesos obtenidas de los ensayos en triplicado de precipitación carbonato de calcio para cada uno de los medios de cultivo, y la bacteria correspondiente. Además, en la última columna se muestran los valores p obtenidos a partir la prueba de Mann- Whitney.

*Se necesita secuenciación del 16S para determinar el género al que pertenece.

C. Adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio en columnas con medio de cultivo.

Las 11 bacterias aisladas de las muestras de suelo fueron sometidas a una prueba con columnas con arena y medio de cultivo para probar la adherencia de las partículas de arena. Como se puede ver en la Figura No. 10. Las bacterias *Staphylococcus* sp. (P.5.2C), *Lysinibacillus* sp. (P.4.1B), *Lysinibacillus* sp. (P.5.2 A), *Lysinibacillus* sp. (P.4.1A), *Lysinibacillus* sp. (P.5.3A), la cepa perteneciente al orden Bacillales (P.6.1), la interacción QS1 que consistió en la mezcla de las bacterias *Lysinibacillus* sp. (P.1.1, P.4.1A, P.5.2A, P.5.2B) y la cepa sin identificación (P.2.2B), la interacción QS2 que consistió en la mezcla de bacterias *Lysinibacillus* sp. (P.2.2A, P.4.1B, P.5.2A, P.5.3B) , *Staphylococcus* sp. (P.5.2C) y la cepa perteneciente al orden Bacillales (P.6.1) y finalmente la interacción SQT que consistió en la mezcla de todas las bacterias, presentaron resultados positivos para la adherencia de las partículas de arena. Los resultados fueron considerados

positivos debido a que las columnas de arena al estar secas no perdían su forma al ser manipuladas, a diferencia de los controles que únicamente habían sido tratados con el medio de cultivo sin bacterias y sin agregar nada a la columna.

Figura No. 10: Prueba de adherencia de partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio.



Leyenda Figura No.10: En esta imagen se muestran las columnas de arena luego de haber finalizado el ensayo y al haberse secado las columnas fuera de las jeringas. En la segunda fila del lado derecho se muestran los controles donde el C+ se refiere a la columna de arena a la que únicamente se le agregó diariamente el medio de cultivo nutritivo con 2% de urea y 2% de cloruro de calcio y el C- a la columna de arena a la que no se le agregó nada.

VII. Análisis de resultados

El objetivo principal de este trabajo fue aislar e identificar bacterias productoras de carbonato de calcio, y comparar la productividad de cada una de ellas, tanto en un medio comercial, como en un medio a base de desechos industriales para tratar microgrietas de concreto en un medio controlado. Para poder llevar a cabo esto, se utilizaron muestras de tierra de 6 puntos diferentes de la cantera de Cementos Progreso; de las cuales se logró aislar 11 bacterias con la capacidad de producir carbonato de calcio.

Como se puede observar en el Cuadro No. 4, a cada una de las bacterias obtenidas se les realizó tinciones para ver su morfología, su tinción de Gram, su capacidad para producir endosporas y se secuenciaron usando el 16S, por medio de estos resultados y los resultados de la Figura No.9 obtenidos al hacer la digestión de los productos de PCR de cada una de las muestras utilizando RsaI, se pudo establecer que las 11 cepas son de 8 especies diferentes.

Se pudo determinar que 7 de las cepas pertenecen al género de *Lysinibacillus* ya que estas fueron aisladas de tierra calcárea y se ha reportado que en muestras de lodo calcáreo y tierras alcalinas se han aislado bacterias del género *Lysinibacillus* (Kong *et al.*, 2014). Además, estas bacterias cuentan con morfología de bacilo Gram positivo y son formadores de esporas, lo que también encaja con la descripción de las especies que pertenecen a este género (Miwa *et al.*, 2009) . Otra de las razones por la que es posible determinar que las bacterias aisladas son del género *Lysinibacillus* es que se ha visto que varias especies son productoras de ureasa y se conoce que existen algunas especies como por ejemplo, *Lysinibacillus boronitolerans*, que tienen la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio (Coorevits *et al.*, 2012; Lee and Park, 2019).

Sin embargo, uno de los bacilos aislados es Gram negativo, al ver los resultados de la secuenciación y analizar la secuencia *directo* con la herramienta bioinformática rpd se indicó que el microorganismo era del género *Bacillus*, pero al analizar la secuencia *reverse* se vio que el microorganismo era un *Lysinibacillus*. Además, al observar la Figura No. 9 donde se muestra el gel del tratamiento con la enzima RasI, se puede ver que las bandas son muy distintas a las de los otros organismos denominados como *Lysinibacillus*. Tomando en cuenta que se conoce que los bacilos agrupados en el género *Bacillus* son Gram positivo (Tejera-hernández and Heydrich-pérez, 2011); es necesario repetir la tinción de Gram, para saber si se trató de un error en la técnica o si efectivamente se trata de un bacilo Gram negativo. También la variación entre las secuencias *directo* y *reverso* se puede deber a que se tuvieron inconvenientes en el transporte de las muestras para su secuenciación, por lo que puede que las muestras se hayan degradado, generando un análisis erróneo. Por lo que es recomendable repetir la secuenciación de esta bacteria, al igual que la de la bacteria P.6.1, que dio como resultado Bacillales sin clasificar, y que también puede deberse a lo mismo de la degradación. En caso que si se lograra realizar una secuenciación correcta y sigue sin estar identificada, podría ser que esta bacteria perteneciera a un nuevo género bacteriano.

En el caso de los cocos Gram positivo aislados, se puede observar en las figuras No.24 y 29 que si cuentan con la capacidad de formar endosporas. Al analizar la secuencia de la bacteria P.5.2C se determinó que se trataba de un *Staphylococcus* sp. se ha visto que el *Staphylococcus aureus* cuenta la con la capacidad de biomineralizar carbonato de calcio por medio del ciclo de la urea (Anbu *et al.*, 2016). A pesar de que estas características encajan con la descripción de la bacteria analizada, esta no es capaz de formar esporas, es por esta razón no se sabe con certeza que el microorganismo estudiado sea un *Staphylococcus*. Por esta razón se debe confirmar este resultado ya que de ser certero, esta cepa deberá ser eliminada del estudio debido a su patogenicidad. En cuanto a la otra bacteria aislada con morfología de coco, no se le lograron hacer los análisis de secuencias ya que estos estaban totalmente degradados y las secuencias no proporcionaron ninguna información. Se cree que se tratan de bacterias perteneciente al género *Sporosarcina* ya que estas son cocos Gram positivos presentes en el suelo y se conoce que *Sporosarcina pasteurii* no solo cuenta con estas características sino que además, es una especie no patogénica que cuenta con la capacidad de biomineralizar y precipitar carbonato de calcio al estar en un medio con presencia de urea y cloruro de calcio (Ghosh *et al.*, 2019). Además, *Sporosarcina ureae* tiene como característica principal la capacidad de habitar ambientes ricos en urea e hidrolizara por medio de la enzima ureasa. Cabe mencionar que el género *Sporosarcina* no solo comparte varias características con los organismos del género *Bacillus*, sino que también se puede ver una semejanza en el genoma de estos dos géneros (Yamada *et al.*, 1976).

Al llevar a cabo el análisis de las secuencias, se realizaron 3 árboles filogenéticos mostrados en las figuras No.149- 151, uno para las secuencias *directo*, una para las secuencias *reverso* y una de la sumatoria entre ambas. Como se puede ver en las imágenes las distancias entre los organismos aislados de las muestras de tierra son muy cercanos, sin embargo, debido al programa donde se realizaron los árboles (Clustal Omega) en la disposición se ven muy alejados, pero esto no es así. Esto nos ayuda a confirmar lo que se creía con los resultados de la digestión con la enzima Rsa1 ya que en este se podía ver que las disposiciones de las bandas eran muy similares entre sí, al igual que las distancias de los microorganismos en los árboles filogenéticos, indicando que sus secuencias son muy similares entre sí, debido a que pertenecen a un mismo género y únicamente varían en la especie.

Debido a que dentro de los géneros puede haber varias especies que cuyas características se adapten a las características de las cepas aislada, se considera necesario repetir la secuenciación del 16S utilizando también los primers universales 530F y 805 R (Youssef *et al.*, 2015), para obtener las regiones internas de la secuencia y así poder compararlas de una mejor manera dando una determinación certera de los microorganismos aislados. .

En este estudio también se llevó a cabo la formulación de un medio de cultivo a base de desechos industriales, para el cual se utilizaron los desechos de mosca producidos en Moscamed. Para poder determinar si este medio de cultivo era capaz de permitir el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio se realizaron las pruebas descritas anteriormente. Los resultados de estos ensayos se presentan en el Cuadro No.8 A partir de estos resultados se obtuvieron las medias y desviaciones estándares mostrados en el Cuadro No. 5. Esto se hizo con el propósito de comparar la productividad de las bacterias a producir carbonato de calcio al estar en el medio de cultivo comercial y el formulado. Dado a que los resultados no cumplen con una distribución normal, se utilizó una prueba no paramétrica de Mann- Whitney. Al ver los valores p resultantes del análisis se puede notar que todos son menores o iguales al valor de alfa (0.05), por lo tanto, sí se rechaza la hipótesis nula por lo que se puede concluir que sí existe diferencia significativa en la producción de carbonato de calcio al utilizar los distintos medios de cultivo.

Para tratar de mejorar la productividad de carbonato de calcio y dado a que se ha visto que las paredes celulares favorecen la unión de cationes divalentes como por ejemplo Ca^{2+} y esto hace que la superficie de los microorganismos sean sitios ideales para la nucleación de cristales de carbonato de calcio (Frederik Hammes & Verstraete, 2002) se intentó suplementar el medio de desechos industriales utilizando fruta podrida como fuente de carbono para mejorar el crecimiento bacteriano. Los resultados de precipitación de carbonato de calcio utilizando estos medios de cultivo se pueden observar en el Cuadro No.9. Por medio de estos resultados, se puede ver que el medio de cultivo a base de desechos industriales es deficiente en nutrientes, ya que permiten el crecimiento bacteriano en poca cantidad a comparación de los medios comerciales. Al suplementarlo se puede ver una mejoría en el crecimiento bacteriano y por lo tanto también en la productividad de carbonato de calcio, de esta forma se puede comprobar que la cantidad de células bacterianas son importantes ya que, a mayor cantidad de paredes celulares bacterianas, mayor serán los sitios de nucleación de los cristales y por tanto mayor el precipitado de carbonato de calcio.

En la sección de anexos, se pueden ver los espectros IR de cada una de las muestras de precipitados extraídos para cada una de las bacterias en los distintos medios, como se puede apreciar, los picos de carbonato están presentes en el espectro, sin embargo, hay presencia de otros picos que representan la contaminación de la muestra. Esto se puede deber a la presencia de restos bacterianos y de medio de cultivo. En el caso de las muestras de precipitado obtenidas a través del medio de cultivo a base de desechos industriales, se puede notar la presencia de los picos de quitosano, eso debido al alto contenido de quitina presente en el medio de cultivo. Sin embargo, aunque el precipitado de carbonato de calcio no es del todo puro, sigue siendo posible su aplicación para la reparación de las grietas en concreto.

Finalmente, se llevaron a cabo los ensayos de adhesión de las partículas de arena por medio de la biomineralización de carbonato de calcio. Al observar la Figura No.6 se puede notar que las columnas de arena tratadas con bacterias ya sea solas o con las interacciones entre ellas, si mostraron cierta cantidad de

adhesión en las partículas de arena, ya que estas mantenían su forma al manipularlas; mientras que los controles se deshacían. En el caso de las columnas tratadas con las bacterias *Lysinibacillus* sp. (P.1.1, P.2.2A, P.2.2B, P.5.2B) y la cepa P.5.3B no se muestran en la figura ya que dado a que la jeringa no permitía el secado adecuado de la arena después de llevado a cabo el ensayo, se tuvieron que sacar las columnas húmedas y estas se cayeron y se rompieron, por lo que no se pudo ver en ellas el efecto de la biomineralización. Por esta razón se recomienda volver a realizar este ensayo aumentando el tiempo de secado dentro de las jeringas y con varias replicas.

VIII. Conclusiones

4. Se lograron aislar 11 bacterias productoras de carbonato de calcio y a través de la digestión enzimática del producto de PCR, se pudo decir que son de 8 especies distintas.
5. De las 11 bacterias aisladas 7 pertenecen al género *Lysinibacillus*, 1 posiblemente al género *Staphylococcus* y 1 posiblemente al género *Sporosarcina*,
6. El medio de cultivo a base de desechos industriales si permite el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.
7. Existe diferencia significativa entre la producción de carbonato de calcio utilizando un medio de cultivo comercial y un medio de cultivo a base de desechos industriales.
8. El suplemento del medio a base de desechos industriales utilizando fruta podrida muestra un aumento en el crecimiento bacteriano y la precipitación de carbonato de calcio.
9. El precipitado producido por las bacterias al estar en un medio rico en urea y cloruro de calcio es carbonato de calcio y su pureza es adecuada para la utilización para la reparación de grietas en concreto.
10. La adhesión en las partículas de arena aumenta al estar tratada con las bacterias aisladas y el medio de cultivo suplementado con urea y cloruro de calcio.

IX. Recomendaciones

1. Comprobar la identificación bacteriana secuenciando el 16S, utilizando también los primers universales 530F y 805 R, para obtener las regiones internas de la secuencia y así poder compararlas de una mejor manera dando una determinación certera de los microorganismos aislados.
2. Suplementar el medio de cultivo a base de desechos industriales con otras fuentes de carbono que permitan mejor el crecimiento bacteriano y por lo tanto también la precipitación de carbonato de calcio.
3. Repetir el ensayo de las columnas de arena aumentando el tiempo de secado dentro de las jeringas y con varias replicas.
4. Realizar pruebas de biorreparación de grietas en concreto utilizando las bacterias aisladas con el medio de cultivo comercial y el formulado.
5. Cuantificar el porcentaje de quitina presente en el precipitado obtenido a través del medio de cultivo formulado a base de desechos industriales.
6. Determinar la morfología de los cristales de carbonato de calcio por medio de difracción de rayos X.

X. Bibliografía

- Alberto, L. *et al.* (2015) '*Biota nativa como un método de restauración . The bioprecipitation of calcium carbonate by native microbial population as a restoration method .*', 28(01), pp. 25–40.
- Anbu, P. *et al.* (2016) '*Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications*', *SpringerPlus*. Springer International Publishing, 5(1), pp. 1–26. doi: 10.1186/s40064-016-1869-2.
- Angulo-cortés, J. P. *et al.* (2012) '*Diseño de un medio para la producción de un co-cultivo de bacterias fosfato solubilizadoras con actividad fosfatasa Introducción*', 17, pp. 43–52. doi: 10.11144/Javeriana.SC17-1.doac.
- Anne, S. *et al.* (2010) '*Evidence of a bacterial carbonate coating on plaster samples subjected to the Calcite Bioconcept biomineralization technique* To cite this version : HAL Id : insu-00491139 Evidence of a bacterial carbonate coating on plaster samples subjected Introduction'.
- Arrieta Rodríguez, M. T. (2011) '*Biomíneralización aplicada a la mitigación de procesos erosivos superficiales, en un suelo tropical de la ciudad de Medellín*', p. 84.
- Ayala, J. L. and Hormazábal, G. (2013) *moscamed en guatemala y sus impactos*. Edited by M. Godinez. México: GrupoMediosiq.
- Bazylinski, D. and Frankel, R. (2003) '*Biologically Controlled Mineralization in Prokaryotes*', *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), pp. 217–247. doi: 10.2113/0540217.
- Benavides, G. and Hermida, A. (2008) *Aislamiento e Identificación de Flora Bacteriana Nativa del Suelo de Los Páramos Cruz Verde y Guasaca*. Pontificia Universidad Javeriana Facultad.
- Beveridge, T. J., Schultzelam, S. and Harauz, G. (1992) '*Participation of a Cyanobacterial-S Layer in Fine-Grain Mineral Formation*', *Journal of Bacteriology*, 174(24), pp. 7971–7981.
- Brennan, S. T., Lowenstein, T. K. and Horita, J. (2004) '*Seawater chemistry and the advent of biocalcification*', *Geology*, 32(6), pp. 473–476. doi: 10.1130/G20251.1.
- Cáceres Rojas, P. (2008) '*Estudio mineralización de carbonato de calcio usando como matriz quitosano y mezclas de quitosano con polímeros sintéticos hidrosolubles*', Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas lio, que presenta una coloración ro- Grupo de Investigación Enológica (GIE).
- Castanier, S. (1999) '*Ca-carbonates precipitation and limestone genesis — the microbiogeologist point of view*', *Sedimentary geology*, 126, pp. 9–23.
- Chaurasia, L., Verma, R. K. and Bisht, V. (2014) '*Microbial Carbonate Precipitation by Urease Producing Bacteria in Cementitious Materials*', *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. Available at: <http://www.bipublication.com> (Accessed: 8 March 2019).
- Coorevits, A. *et al.* (2012) '*Lysinibacillus macroides sp. nov., nom. rev.*', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(5), pp. 1121–1127. doi: 10.1099/ij.s.0.027995-0.
- Del, E., Diseño, A. Y. and Mora, N. G. (2017) '*Autorreparación de fisuras en concreto rígido para pavimentos mediante la adición de bacterias bioprecipitadoras de carbonato de calcio*'.

- Dhami, N. K. *et al.* (2017) 'Bacterial community dynamics and biocement formation during stimulation and augmentation: Implications for soil consolidation', *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL). doi: 10.3389/fmicb.2017.01267.
- Dhami, N. K., Reddy, M. S. and Mukherjee, A. (2012) 'Improvement in strength properties of ash bricks by bacterial calcite', *Ecological Engineering*. Elsevier B.V., 39, pp. 31–35. doi: 10.1016/j.ecoleng.2011.11.011.
- Díaz, E. R. (2015) 'Biomateriales para uso en Ingeniería Civil', *L'esprit Ingénieux*, 4(1). Available at: <http://revistas.ustatunja.edu.co/index.php/lingenieux/article/view/856>.
- Doehne, E. and Price, C. A. (2010) *Stone Conservation An Overview of Current Research Second Edition*. Available at: www.gettypublications.org (Accessed: 4 March 2019).
- Fierer, N. *et al.* (2007) 'Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil', *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21), pp. 7059–7066. doi: 10.1128/AEM.00358-07.
- Frankel, R. B. (2005) 'Biologically Induced Mineralization by Bacteria', *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), pp. 95–114. doi: 10.2113/0540095.
- Gaspar, P. L. and Brito, J. de (2008) 'Quantifying environmental effects on cement-rendered facades: A comparison between different degradation indicators', *Building and Environment*, 43(11), pp. 1818–1828. doi: 10.1016/j.buildenv.2007.10.022.
- Ghosh, T. *et al.* (2019) 'Sporosarcina pasteurii can form nanoscale calcium carbonate crystals on cell surface', *PLoS ONE*, 14(1), pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0210339.
- Gómez, L. (2001) 'Contaminación Y Biodiversidad En Ecosistemas', *Medicina Veterinaria*, 22(3), pp. 191–197.
- Gracia Alarcón, O. A. and Quesada Bolaños, G. (2012) 'Evaluación De Una Alternativa Para La Construcción De Pisos Industriales De Gran Formato En Colombia', *Bogota DC*, p. 76.
- Hammes, F. *et al.* (2003) 'Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation', *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), pp. 4901–4909. doi: 10.1128/AEM.69.8.4901-4909.2003.
- Hammes, F. and Verstraete*, W. (2002) 'Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation', *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 1(1), pp. 3–7. doi: 10.1023/A:1015135629155.
- Hernández-Hernández, A., Rodríguez-Navarro, A., Gómez-Morales, J., Jiménez-López, C. & García-Ruiz, J. (2008) 'Influence of Model Globular Proteins with Different Isoelectric & DESIGN XXXX', *Crystal Growth & Design*.
- Invitrogen (2018) 'Bacterial DNA detection using Platinum II Taq Hot-Start DNA Polymerase', pp. 2–5.
- Jiménez-lópez, T. P. C. V. C. (2001) 'Biomíneralización bacteriana de magnetita y aplicaciones', (1), pp. 58–74.
- Jonkers, H. . (2011) 'Bacteria-based self-healing concrete', *Frankfurter Afrikanistische Blätter*, 8(1), pp. 49–79.

- Karlapudi, A. P. *et al.* (2016) 'Bioconcrete build buildings with quorum sensing molecules of biofilm bacteria', *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(1), pp. 10–12.
- Kong, D. *et al.* (2014) 'Lysinibacillus halotolerans sp. nov., isolated from saline-alkaline soil', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(PART 8), pp. 2593–2598. doi: 10.1099/ijs.0.061465-0.
- Krishnapriya, S., Babu, D. L. V. and G, P. A. (2015) 'Isolation and identification of bacteria to improve the strength of concrete', *Microbiological Research*. Elsevier GmbH., 174, pp. 48–55. doi: 10.1016/j.micres.2015.03.009.
- Lee, Y. S. and Park, W. (2019) 'Enhanced calcium carbonate-biofilm complex formation by alkali-generating Lysinibacillus boronitolerans YS11 and alkaliphilic Bacillus sp. AK13', *AMB Express*. Springer Berlin Heidelberg, 9(1). doi: 10.1186/s13568-019-0773-x.
- Linares, F. and Valenzuela, R. (2013) 'Medfly Program in Guatemala and Mexico: Current Situation', *Fruit Flies*, pp. 425–438. doi: 10.1007/978-1-4757-2278-9_81.
- Liu, H. *et al.* (2015) 'Biom mineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments', *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), pp. 455–464. doi: 10.1590/s1517-838246220140533.
- Mann, S. (1995) 'Biom mineralization and biomimetic materials chemistry', *J. Phys. Chem. B*, 106(7), pp. 7729–7744.
- Miwa, H. *et al.* (2009) 'Lysinibacillus parviboronicapiens sp. nov., a low-boron-containing bacterium isolated from soil', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(6), pp. 1427–1432. doi: 10.1099/ijs.0.65455-0.
- Monter-Miranda, J. G. *et al.* (2016) 'Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosano de Brachystola magna (Girard)', *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, 15(3), pp. 749–761. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1644-9665\(12\)60093-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1644-9665(12)60093-4).
- Moreno, A. and Velaverde, K. (2016) *Aislamiento, Caracterización Y Usos Potenciales De Microorganismos De Tierra De Montaña Y Subtrópico Durante El Periodo 2016*. Escuela Superior Politecnica De Chimborazo.
- De Muynck, W., De Belie, N. and Verstraete, W. (2010) 'Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review', *Ecological Engineering*, 36, pp. 118–136. doi: 10.1016/j.ecoleng.2009.02.006.
- O', V. A. *et al.* (2010) 'Las tecnologías del concreto en su ciclo de vida'. Available at: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ccid/v1n2/v1n2a4.pdf> (Accessed: 8 March 2019).
- Passarini, V. D. C. and Silva, F. P. C. (2017) 'Bioconcreto : a Tecnologia Para Construção Sustentavel', *Inovae*, 5(2), pp. 41–58.
- Roche Diagnostics Group (2008) *High Pure PCR Template Preparation Kit Rapidly purify genomic DNA for diverse applications*.
- Rodriguez-navarro, C. *et al.* (2003) 'Conservation of Ornamental Stone by Myxococcus xanthus- Induced Carbonate Biom mineralization Conservation of Ornamental Stone by Myxococcus xanthus- Induced Carbonate Biom mineralization'. doi: 10.1128/AEM.69.4.2182.

- Rodríguez-Navarro, C. *et al.* (2012) ‘*Influence of substrate mineralogy on bacterial mineralization of calcium carbonate: Implications for stone conservation*’, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(11), pp. 4017–4029. doi: 10.1128/AEM.07044-11.
- Seifan, M., Samani, A. K. and Berenjian, A. (2016) ‘*Bioconcrete : next generation of self-healing concrete*’. doi: 10.1007/s00253-016-7316-z.
- Siddique, R. and Chahal, N. K. (2011) ‘*Effect of ureolytic bacteria on concrete properties*’, *Construction and Building Materials*, 25(10), pp. 3791–3801. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2011.04.010.
- Tejera-hernández, B. and Heydrich-pérez, M. M. R. M. (2011) ‘*Potencialidades del género Bacillus en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos*’, *Revista CENIC : Ciencias Biológicas*, 42(3), pp. 131–138.
- Uribe, L. (1990) ‘*Uso de indicadores microbiológicos de actividad función*’, 2.
- USALP: Laboratorio de Genómica Viral y Humana Facultad de Medicina (2008) ‘*Preparación de Geles de Agarosa para Electroforesis*’, p. 4. Available at: http://www.genomica.uaslp.mx/Protocolos/Mol_GelAgarosa.pdf.
- Valencia González, Y., Carvalho-Camapum, J. and Lara-Valencia, L. A. (2015) ‘*Influence of biomineralization on a profile of a tropical soil affected by erosive processes*’, *Dyna*, 82(192), pp. 221–229. doi: 10.15446/dyna.v82n192.42942.
- Velásquez, L. (2019) ‘*Centro de Investigación y Desarrollo Cementos Progreso*’, p. 1.
- Yamada, Y. *et al.* (1976) ‘*The menaquinone system in the classification of aerobic gram-positive cocci in the genera micrococcus, staphylococcus, planococcus, and sporosarcina*’, *The Journal of General and Applied Microbiology*, 22(5), pp. 227–236. doi: 10.2323/jgam.22.227.
- Youssef, N. H. *et al.* (2015) ‘*Assessing the global phylum level diversity within the bacterial domain: A review*’, *Journal of Advanced Research*, 6(3), pp. 269–282. doi: 10.1016/j.jare.2014.10.005.
- Zhu, Y. *et al.* (2017) ‘*Genomic and transcriptomic insights into calcium carbonate biomineralization by marine actinobacterium Brevibacterium linens BS258*’, *Frontiers in Microbiology*, 8(APR), pp. 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2017.00602.

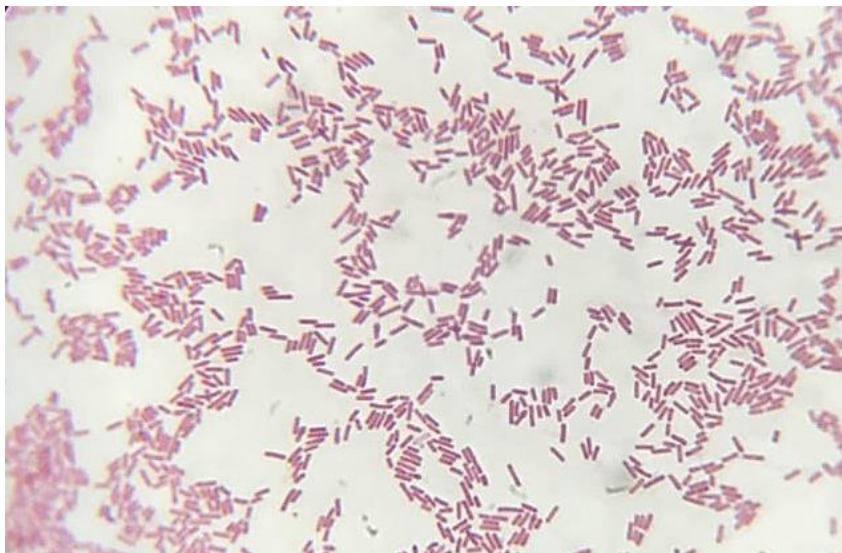
XI. Anexos

Figura No.11:Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.1.1



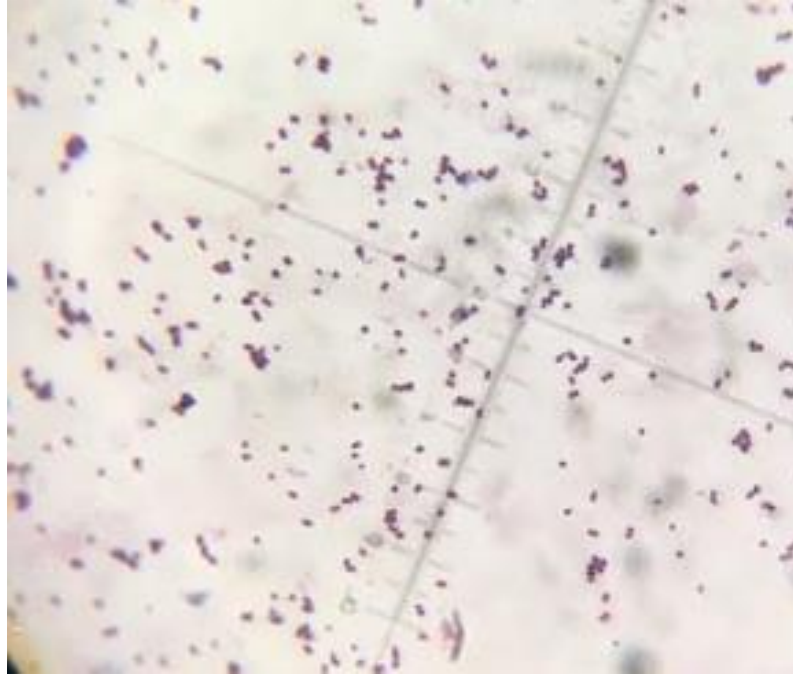
Leyenda Figura No.11: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.1.1 donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.12:Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.2.2A



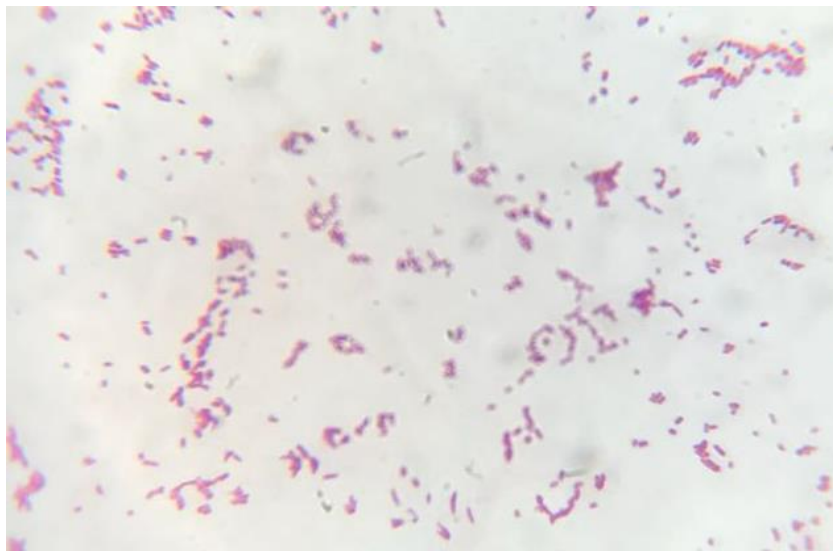
Leyenda Figura No.12: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.2.2A donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.13: Tinción de Gram para muestra bacteriana. P.2.2B



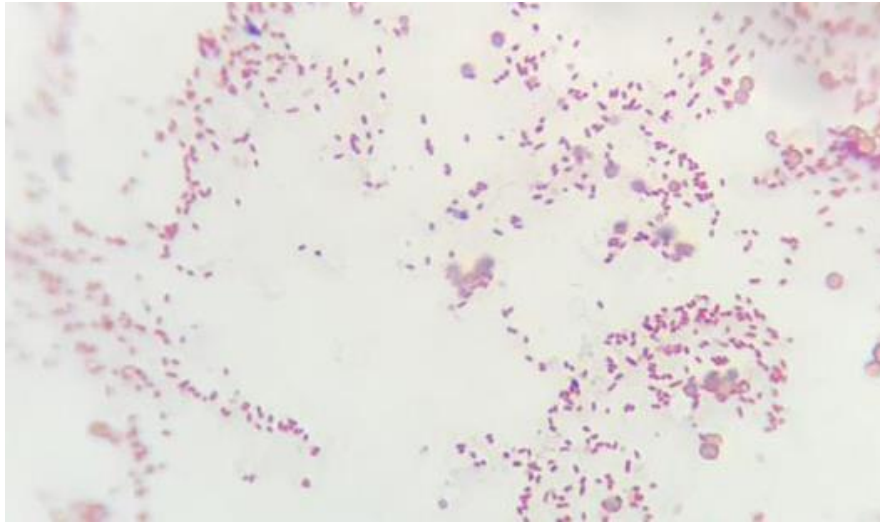
Leyenda Figura No.13: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.2.2B donde se pueden observar cocos Gram +.

Figura No.14: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.4.1A



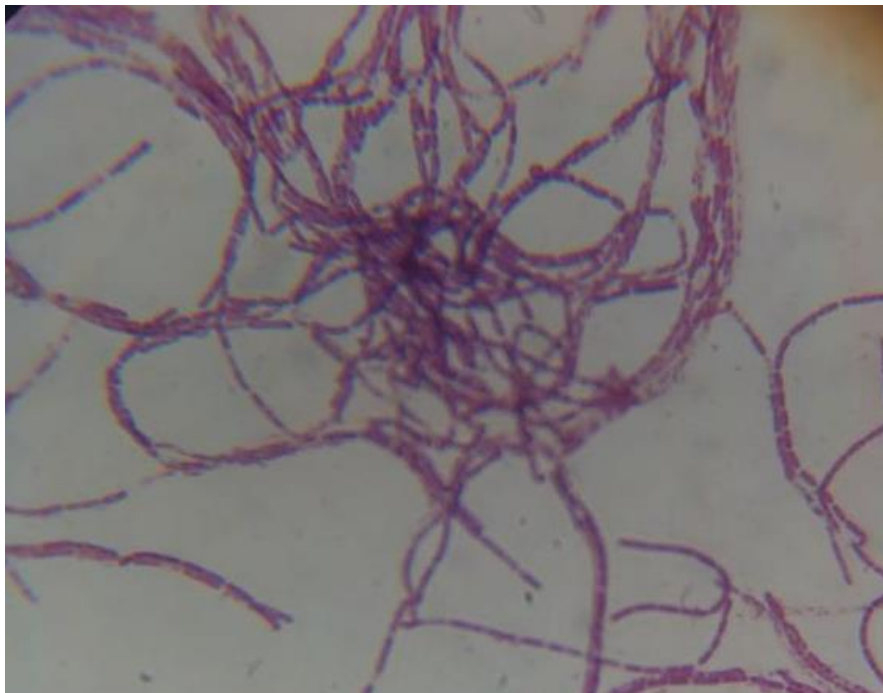
Leyenda Figura No.14: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.4.1A donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.15: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.4.1B



Leyenda Figura No.15: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.4.1B donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.16: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.2A



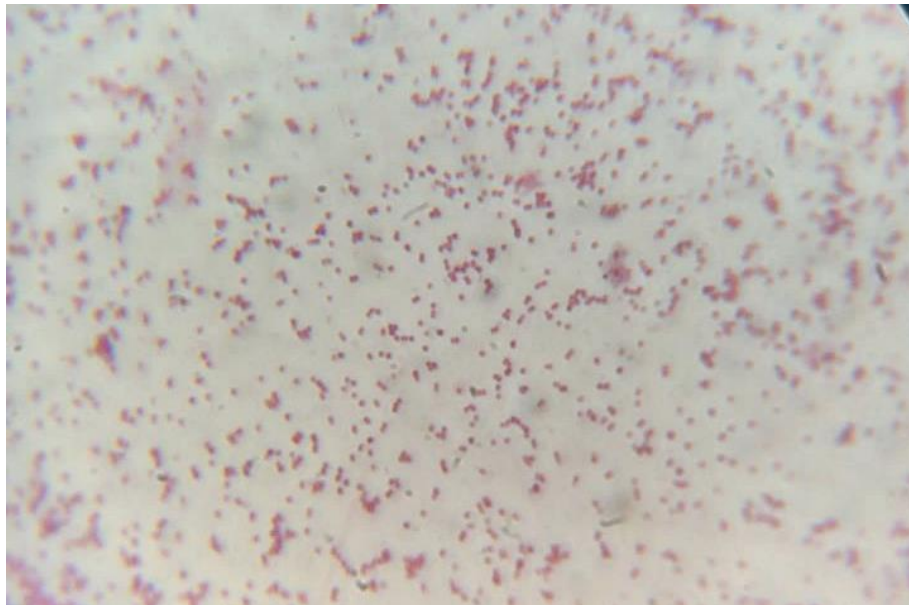
Leyenda Figura No.16: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.5.2A donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.17: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.2B



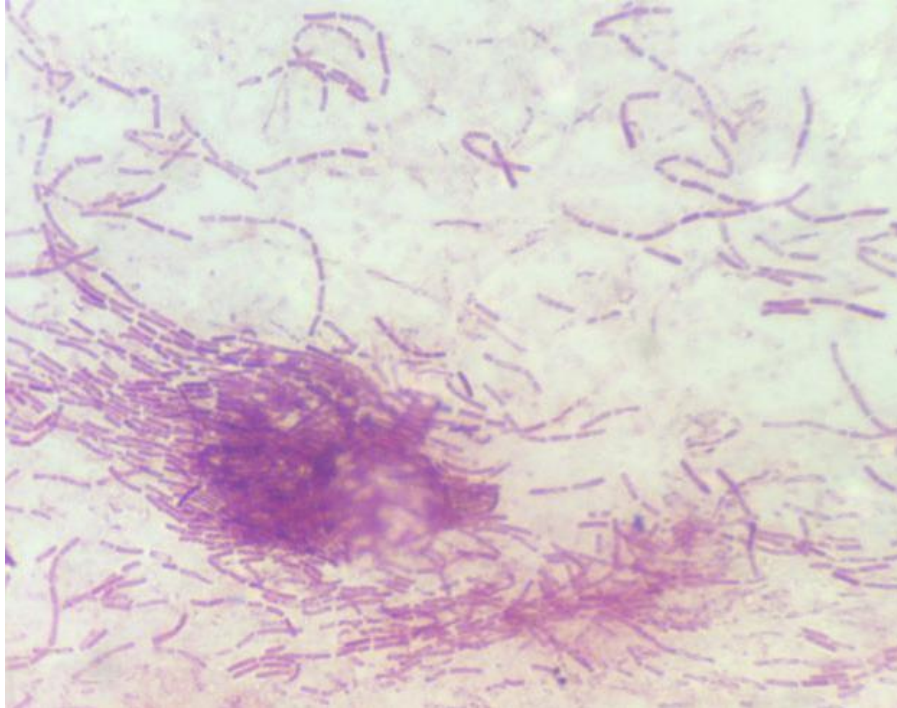
Leyenda Figura No.17: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.5.2B donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.18: Tinción de Gram para Staphylococcus sp. P.5.2C



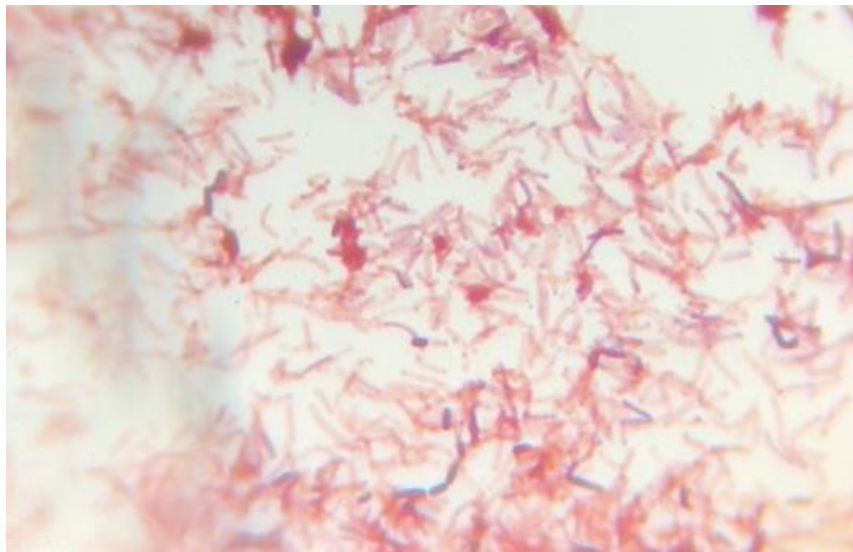
Leyenda Figura No.18: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.5.2C donde se pueden observar cocos Gram + indicando un posible *Staphylococcus* sp.

Figura No.19: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.5.3A



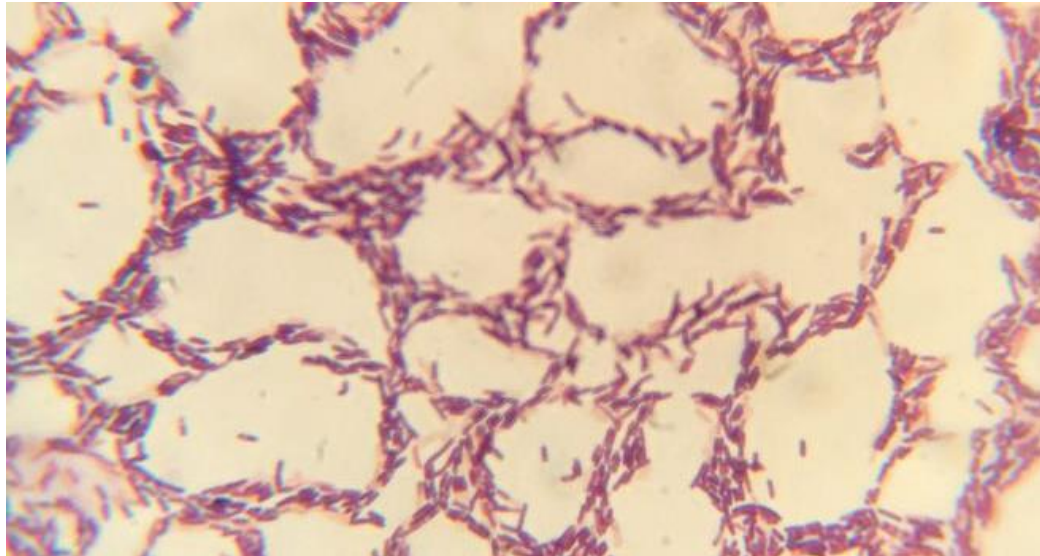
Leyenda Figura No.19: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.5.3A donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.20: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp./ Bacillus sp. P.5.3B



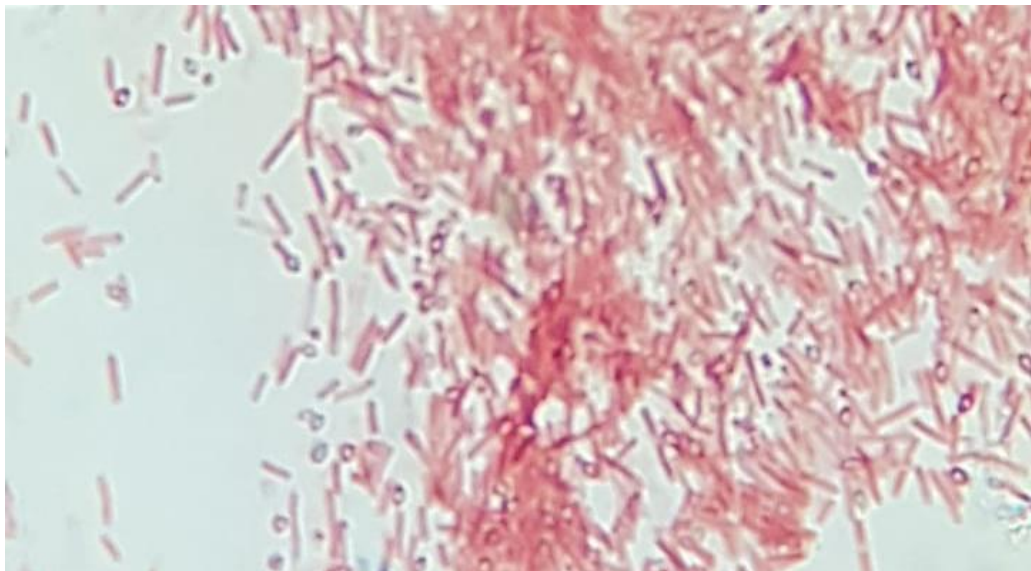
Leyenda Figura No.20: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.5.3B donde se pueden observar bacilos Gram variable.

Figura No.21: Tinción de Gram para Lysinibacillus sp. P.6.1



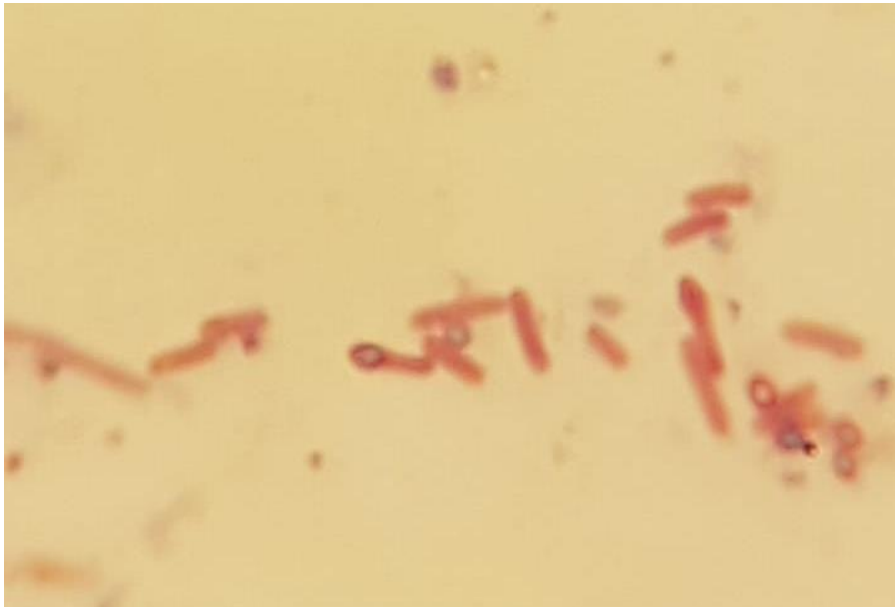
Leyenda Figura No.21: en esta figura se muestra la tinción de Gram para la bacteria P.6.1 donde se pueden observar bacilos Gram + indicando un posible *Lysinibacillus* sp.

Figura No.22: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.1.1



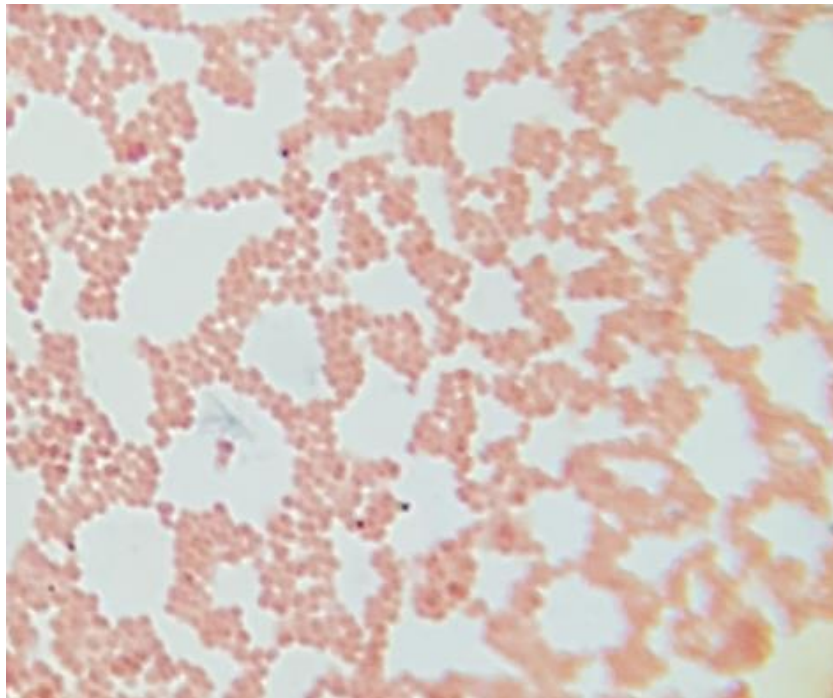
Leyenda Figura No.22: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.1.1 donde se pueden observar endosporas.

Figura No.23: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.2.2A



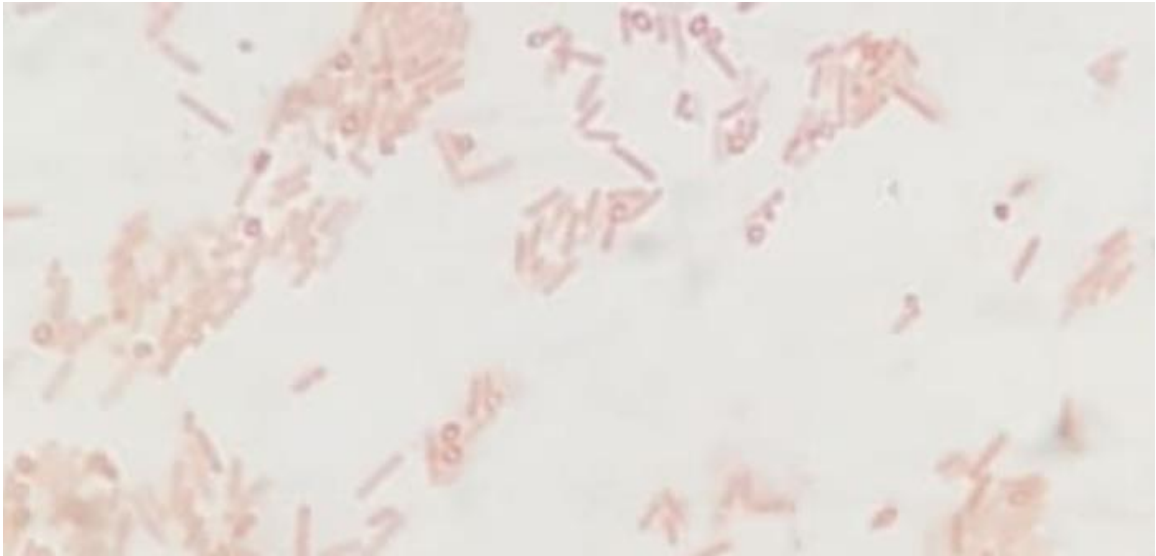
Leyenda Figura No.23: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.2.2A donde se pueden observar endosporas.

Figura No.24: Tinción de esporas para la muestra bacteriana. P.2.2B



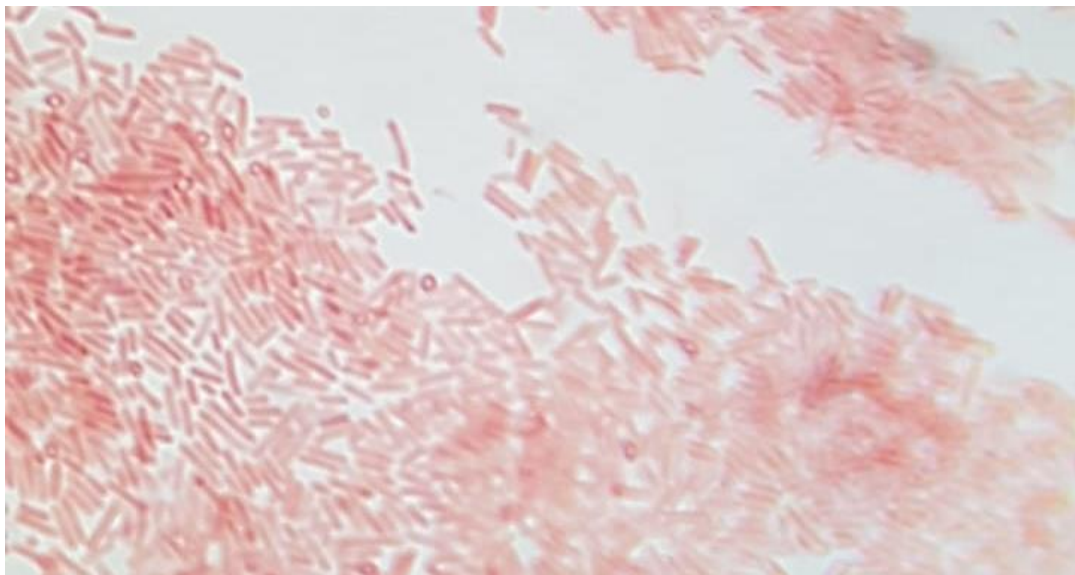
Leyenda Figura No.24: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la muestra bacteriana. P.2.2B donde se pueden observar endosporas.

Figura No.25: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.4.1A



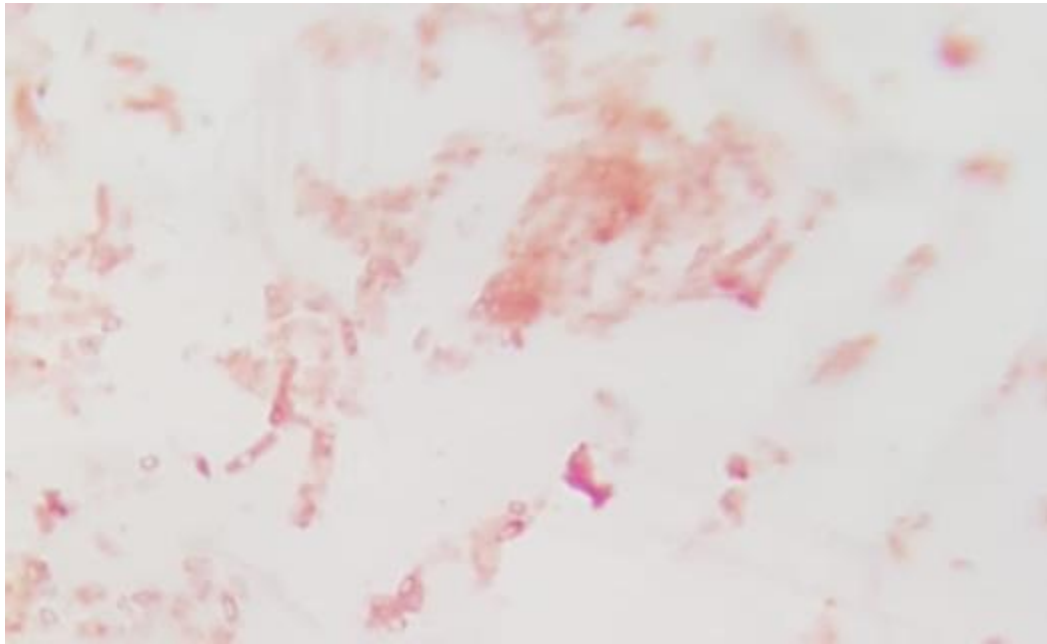
Leyenda Figura No.25: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.4.1A donde se pueden observar endosporas.

Figura No.26: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.4.1B



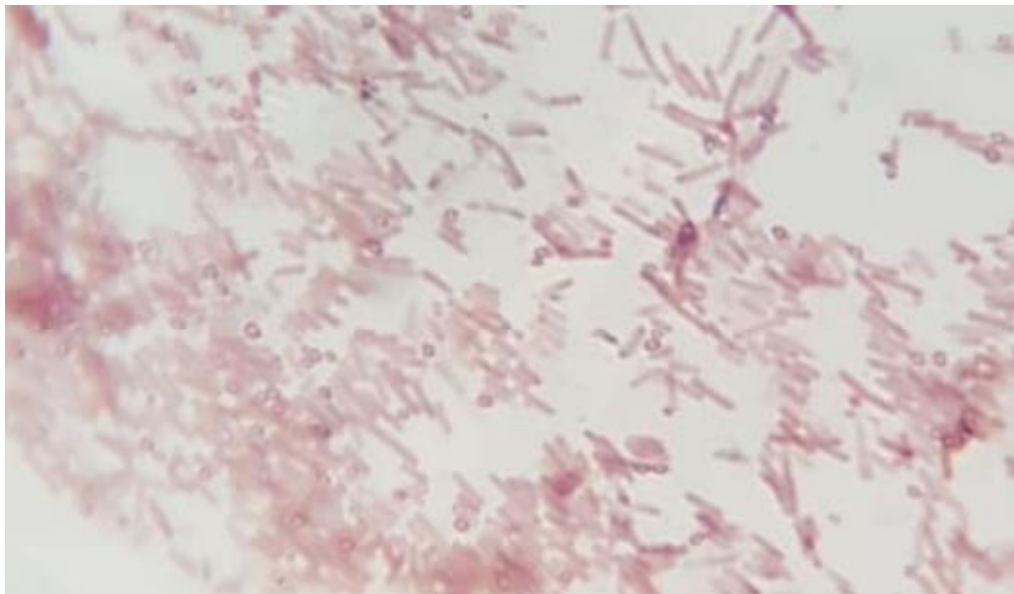
Leyenda Figura No.26: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.4.1B donde se pueden observar endosporas.

Figura No.27: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.2A



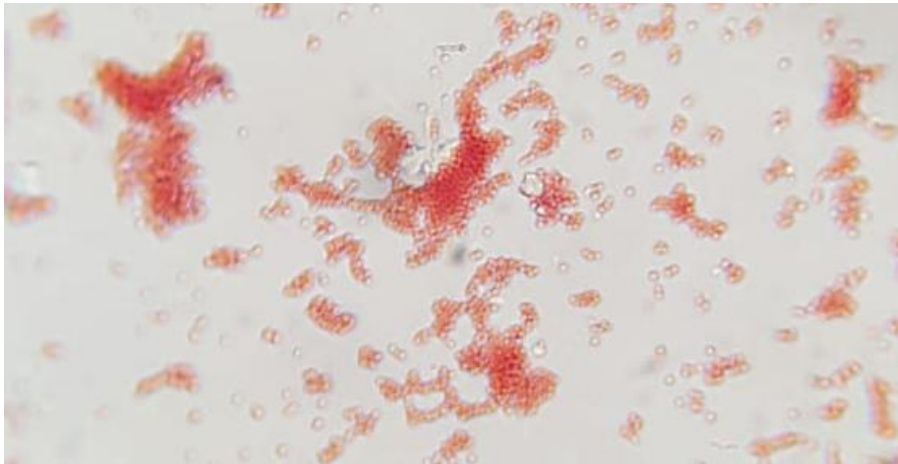
Leyenda Figura No.27: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.5.2A donde se pueden observar endosporas.

Figura No.28: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.2B



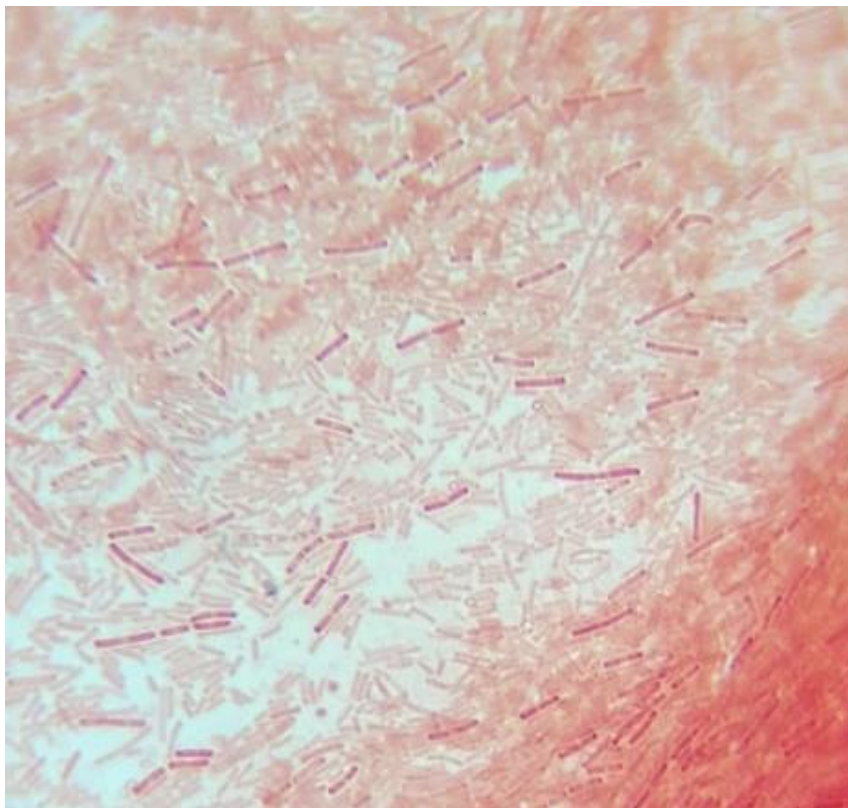
Leyenda Figura No.28: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.5.2B donde se pueden observar endosporas.

Figura No.29: Tinción de esporas para Staphylococcus sp. P.5.2C



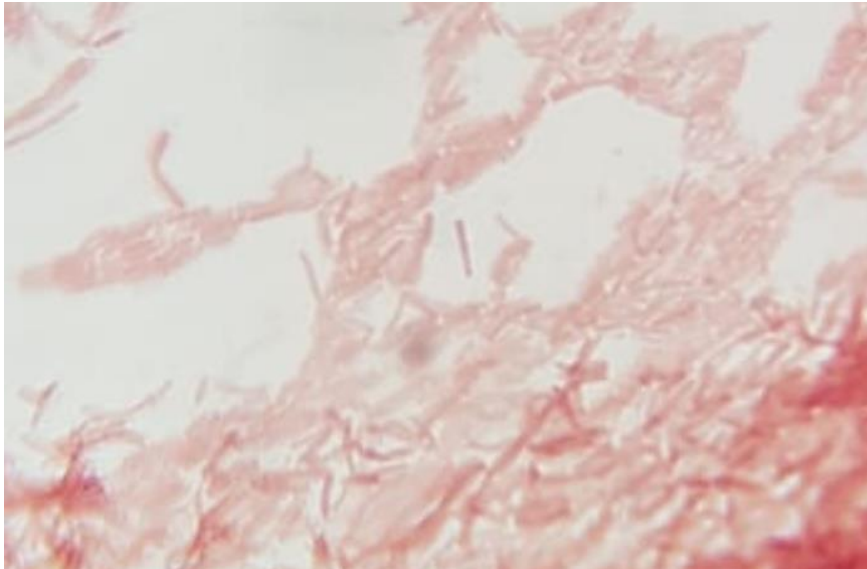
Leyenda Figura No.29: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Staphylococcus* sp.P.5.2C donde se pueden observar endosporas.

Figura No.30: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp. P.5.3A



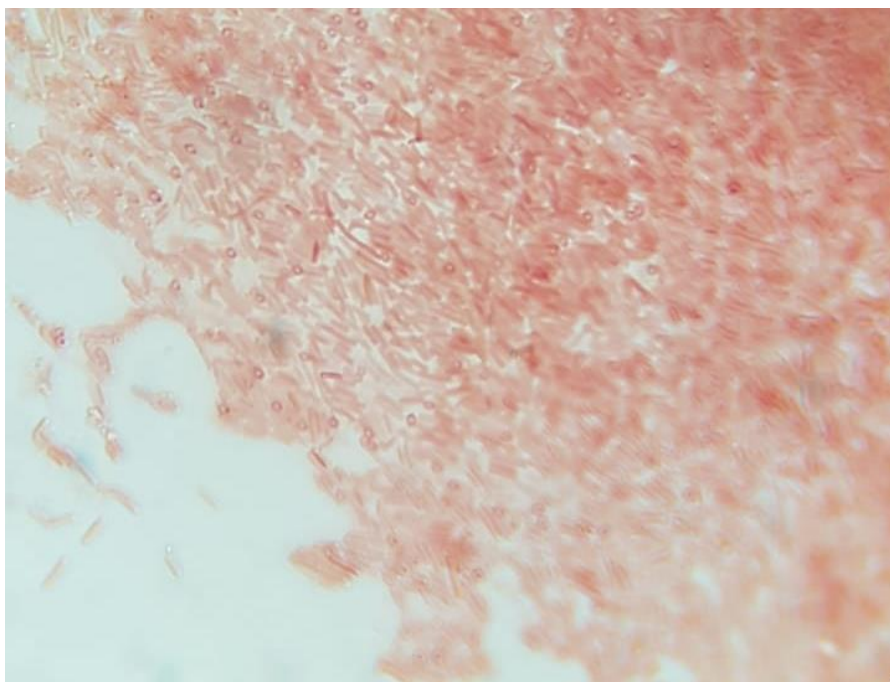
Leyenda Figura No.30: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria *Lysinibacillus* sp. P.5.3A donde se pueden observar endosporas.

Figura No.31: Tinción de esporas para Lysinibacillus sp./ Bacillus sp. P.5.3B



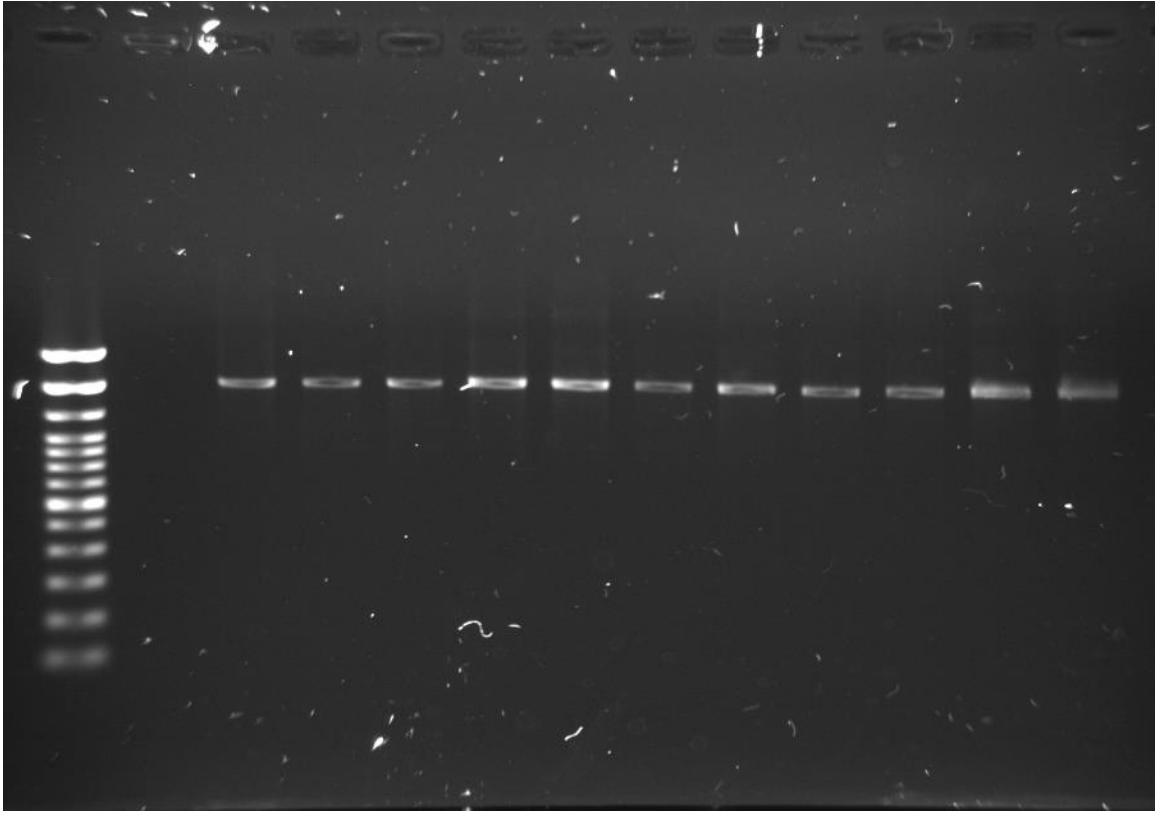
Leyenda Figura No.31: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria P.5.3B donde se pueden observar endosporas.

Figura No.32: Tinción de esporas para la muestra bacteriana Bacillales . P.6.1



Leyenda Figura No.32: en esta figura se muestra la tinción de esporas realizadas con verde de malaquita y safranina para la bacteria Bacillales. P.6.1 donde se pueden observar endosporas.

Figura No.33: Gel de electroforesis para productos de PCR



Leyenda Figura No.33: en esta figura se muestra un gel al 0.8% de agarosa con bromuro de etidio, donde se cargaron los productos de PCR de cada una de las cepas bacterianas, así como un control negativo y la escalera. Las muestras fueron cargados en los pozos según el mapa de carga del cuadro No.6.

Cuadro No. 6: Mapa de carga para productos de PCR

Pozo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Muestra	E	C	P.1.1	P.2.2 A	P.2.2 B	P.4.1 A	P.4.1 B	P.5.2 A	P.5.2 B	P.5.2 C	P.5.3 A	P.5.3 B	P.6.1

Leyenda Cuadro No.6: en este cuadro se muestra el mapa de carga utilizado para cargar el gel de electroforesis para productos de PCR, donde E es escalera y C el control negativo.

Cuadro No. 7: Mapa de carga para digestión enzimática de productos de PCR

Pozo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Muestra	-	E	C	P.1.1	P.2.2 A	P.2.2 B	P.4.1 A	P.4.1 B	P.5.2 A	P.5.2 B	P.5.2 C	P.5.3 A
Pozo	13	14	15	16	17							
Muestra	P.5.3 B	P.6.1	-	-	-							

Leyenda Cuadro No.7: en este cuadro se muestra el mapa de carga utilizado para cargar el gel de electroforesis para productos de la digestión enzimática de productos de PCR utilizando la enzima RasI, donde E es escalera y C el control negativo.

Cuadro No. 8: Productividad de carbonato de calcio en medio de cultivo comercial y a base de desechos industriales

Bacteria	Medio a base de desechos industriales			Medio comercial		
	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
P.1.1	0.0009	0.0004	0.0007	0.0243	0.0114	0.0153
P.2.2 A	0.0007	0.0004	0.0012	0.0147	0.0162	0.018
P.2.2 B	0.0006	0.001	0.0004	0.0153	0.0205	0.0107
P.4.1 A	0.0003	0.0007	0.0005	0.0303	0.0542	0.031
P.4.1 B	0.0004	0.0004	0.0007	0.0328	0.0351	0.0205
P.5.2 A	0.001	0.0006	0.0004	0.0283	0.0205	0.0548
P.5.2 B	0.0006	0.0005	0.0008	0.016	0.0073	0.0133
P.5.2 C	0.0009	0.0007	0.0005	0.0122	0.0137	0.0119
P.5.3 A	0.0008	0.0006	0.0006	0.0345	0.0241	0.0594
P.5.3 B	0.0005	0.0006	0.0004	0.0164	0.0223	0.0247
P.6.1	0.0008	0.0005	0.001	0.02	0.0248	0.0305
Control	0	0.0003	0.0001	0.004	0.0028	0.0051

Leyenda Cuadro No.8: en este cuadro se muestran los pesos en gramos de carbonato de calcio extraído cuando la bacteria estuvo en un medio de cultivo comercial y en uno a base de desechos industriales.

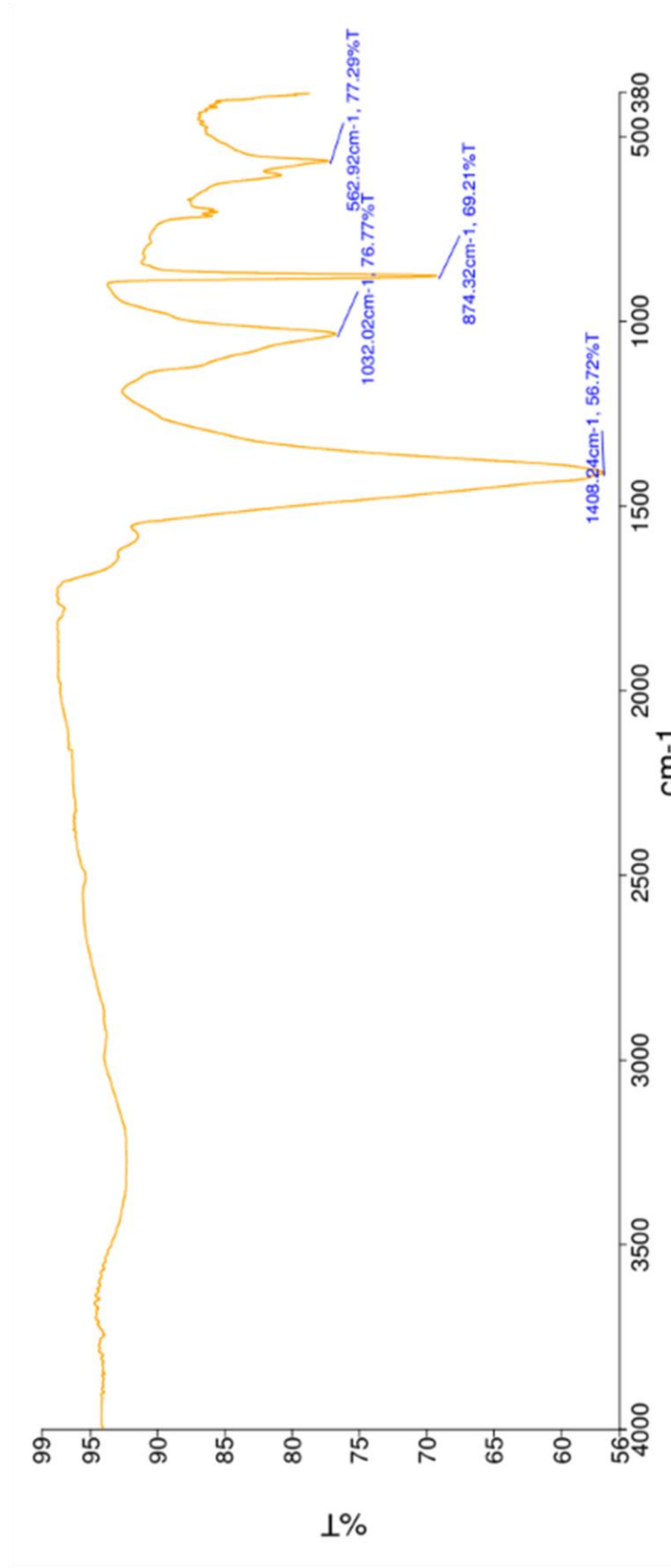
Cuadro No. 9: Productividad de carbonato de calcio en medio de cultivo a base de desechos industriales suplementado con fruta podrida

Bacteria	Género	Banano	Fresa
		peso (g)	Peso (g)
P.1.1	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0012	0.018
P.2.2A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0031	0.001
P.2.2B	Determinar molecularmente*	0.0012	0.0078
P.4.1A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0013	0.005
P.4.1B	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0019	0.002
P.5.2A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0015	0.0021
P.5.2 B	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0008	0.0102
P.5.2 C	<i>Staphylococcus</i> sp.	0.0005	0.0015
P.5.3 A	<i>Lysinibacillus</i> sp.	0.001	0.008
P.5.3 B	<i>Bacillus</i> sp./ <i>Lysinibacillus</i> sp.	0.0011	0.0031
P.6.1	Bacillares sin clasificar*	0.0019	0.0091
Control		0.0002	0.0019

Leyenda Cuadro No.9: en este cuadro se muestran los pesos en gramos de carbonato de calcio extraído cuando la bacteria estuvo en un medio de a base de desechos industriales suplementado con banano podrido y con fresas podridas.

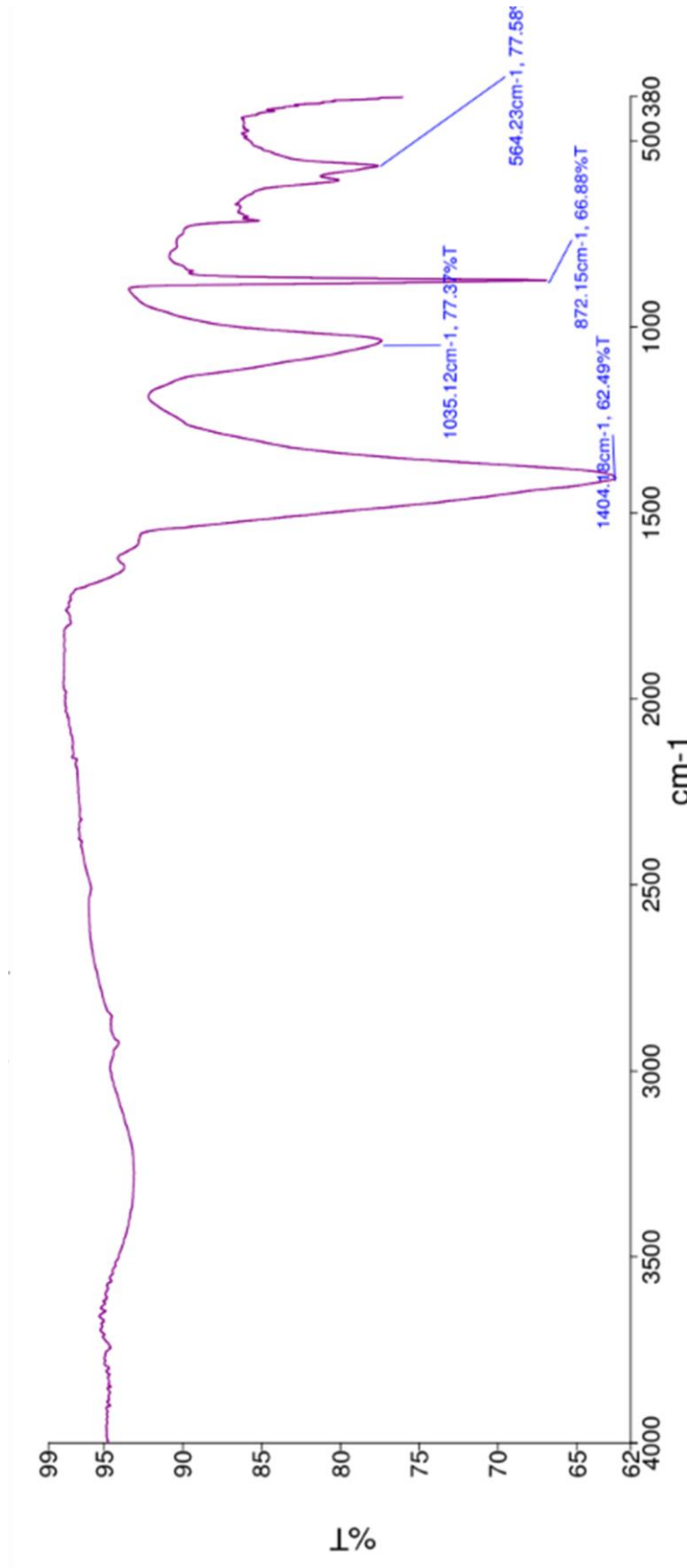
*Se necesita secuenciación del 16S para determinar el género al que pertenece.

Figura No.34: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con medio de cultivo comercial



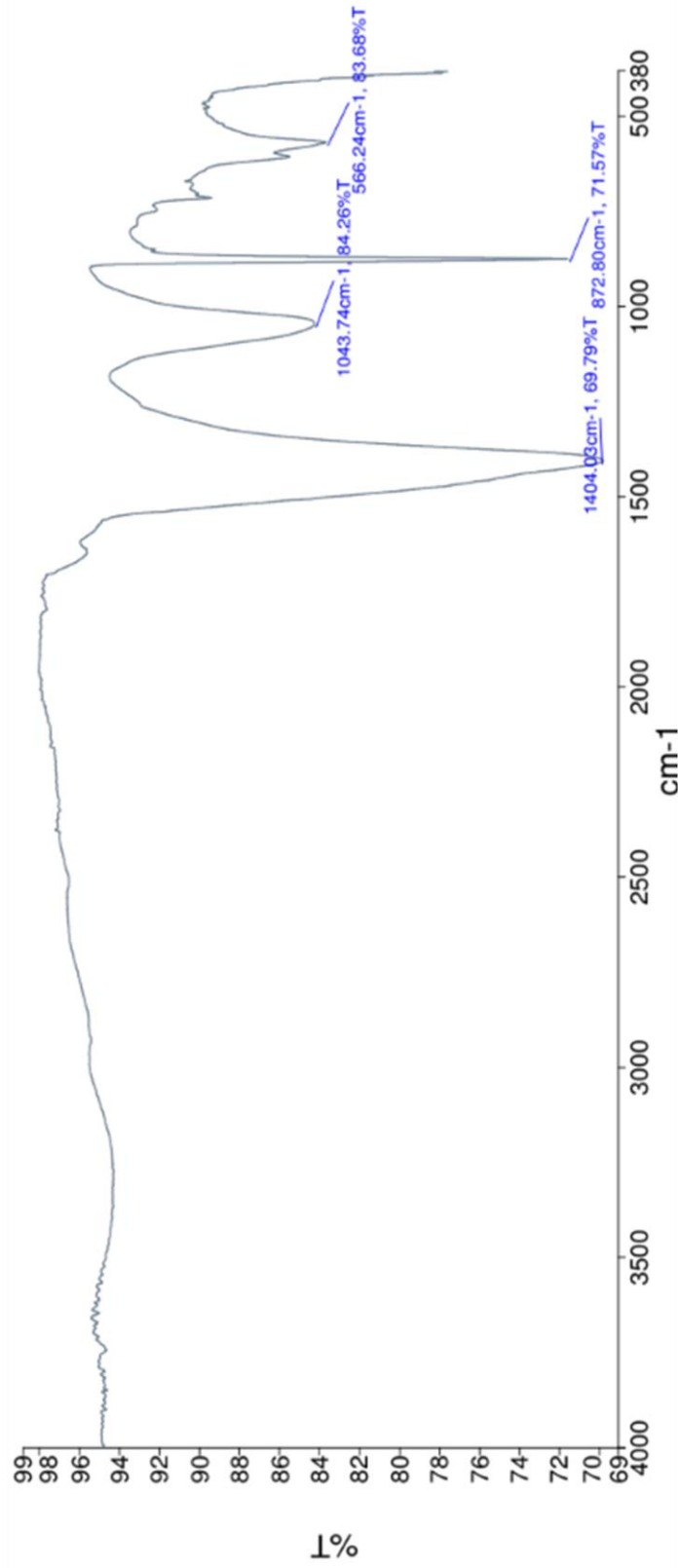
Leyenda Figura No.34: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.35: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A con medio de cultivo comercial



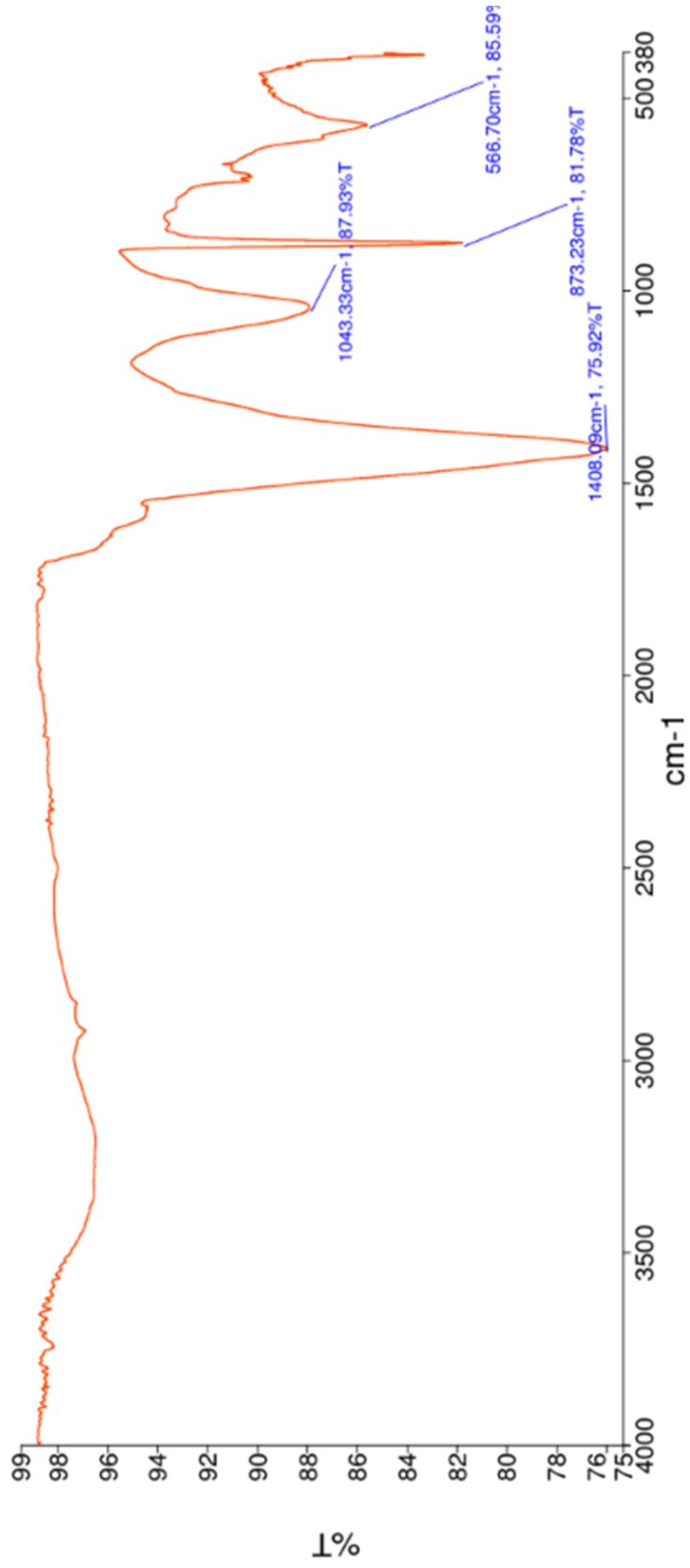
Leyenda Figura No.35: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.36: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de P.2.2B con medio de cultivo comercial



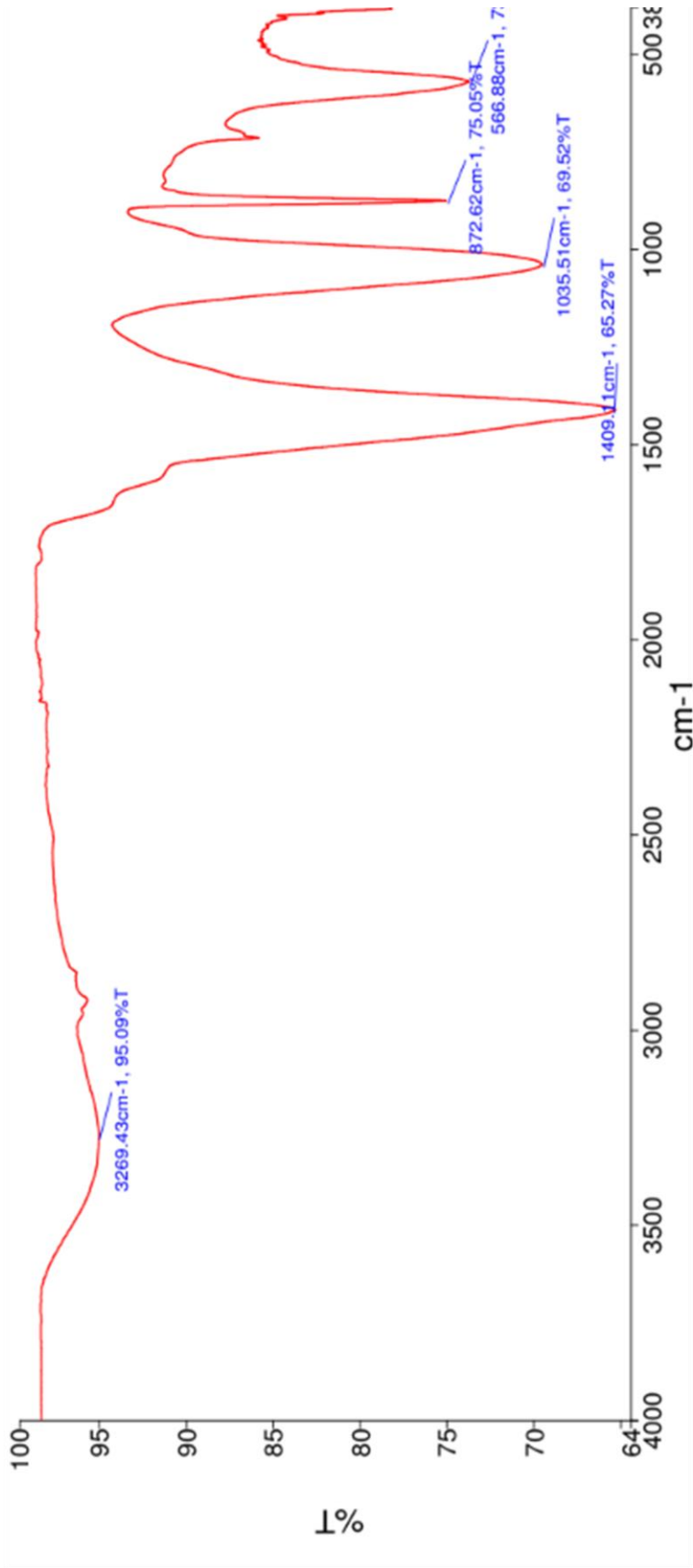
Leyenda Figura No.36: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando la muestra bacteriana. P.2.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.37: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con medio de cultivo comercial



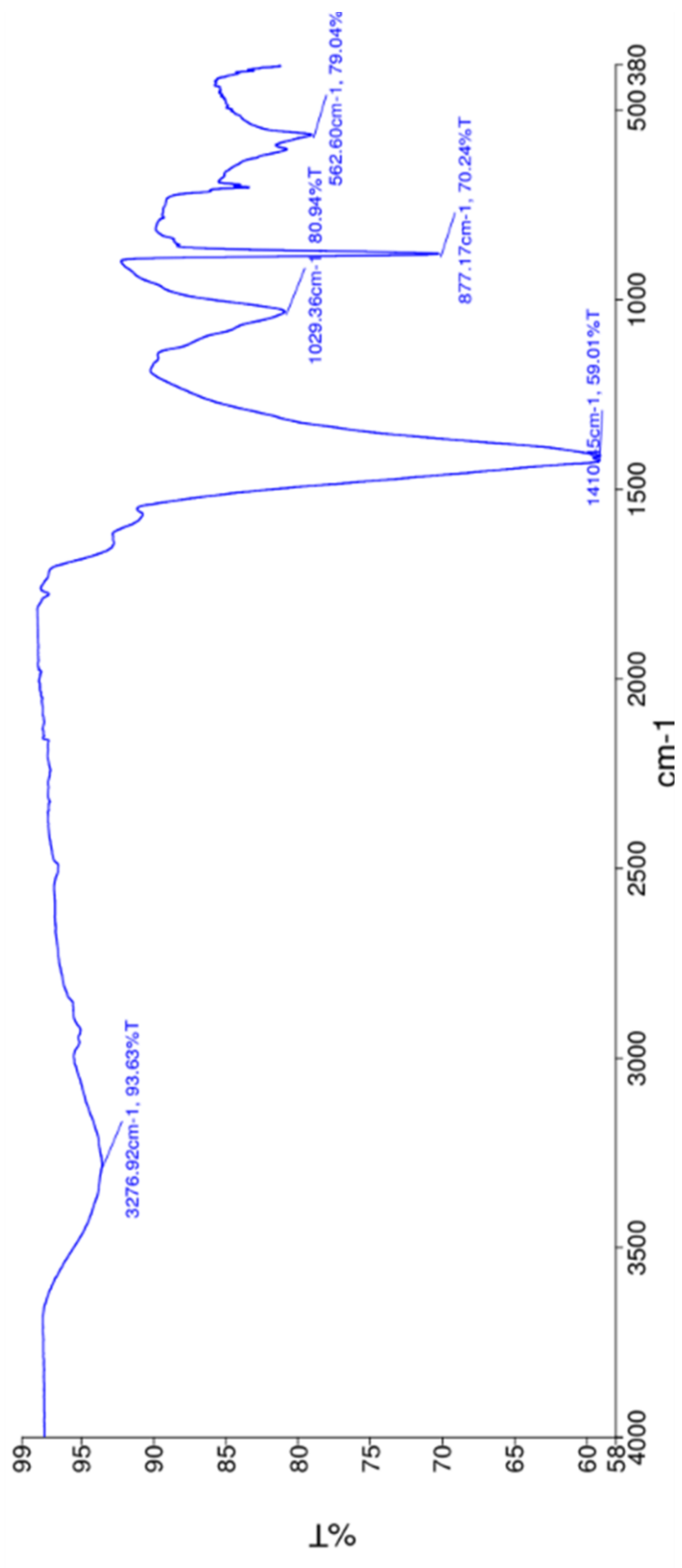
Leyenda Figura No.37: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.38: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1B con medio de cultivo comercial



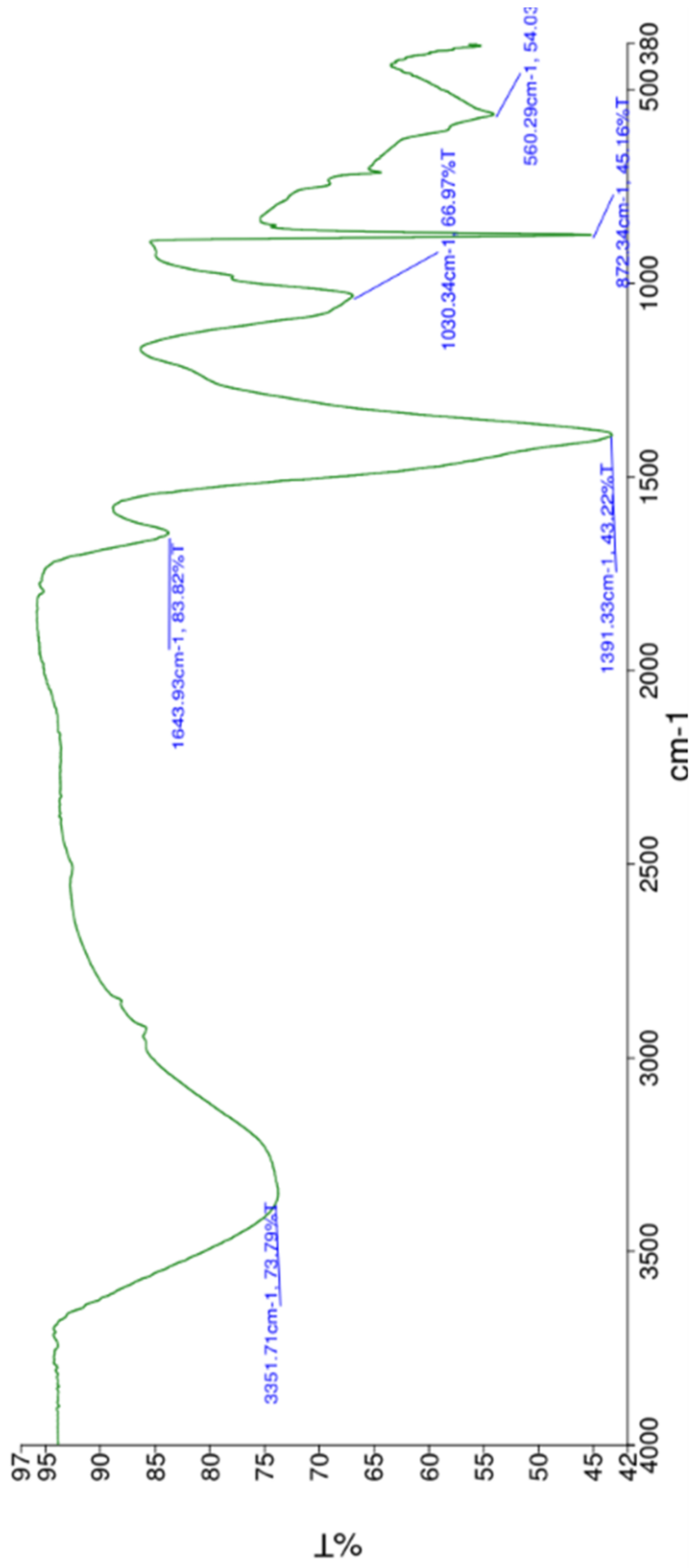
Leyenda Figura No.38: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.39: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A con medio de cultivo comercial



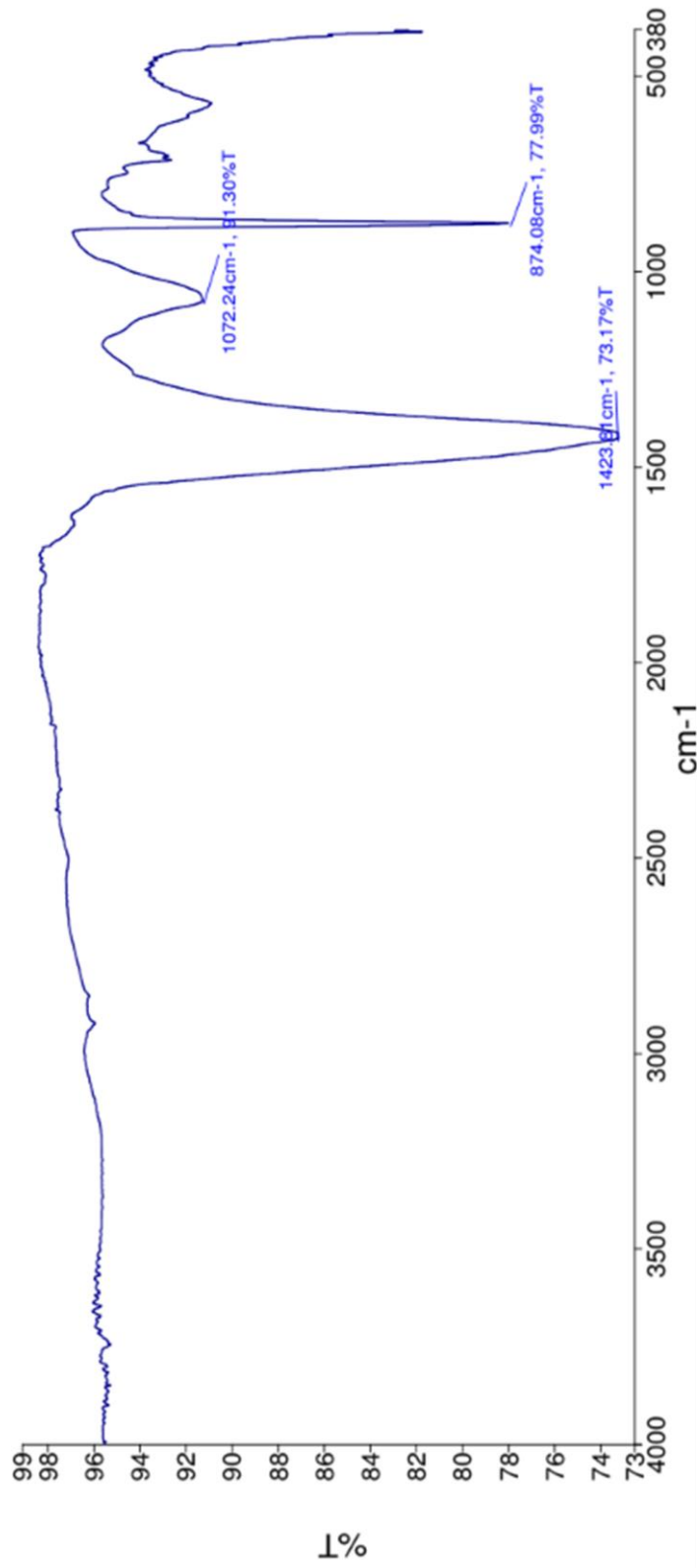
Leyenda Figura No.39: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.40: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B con medio de cultivo comercial



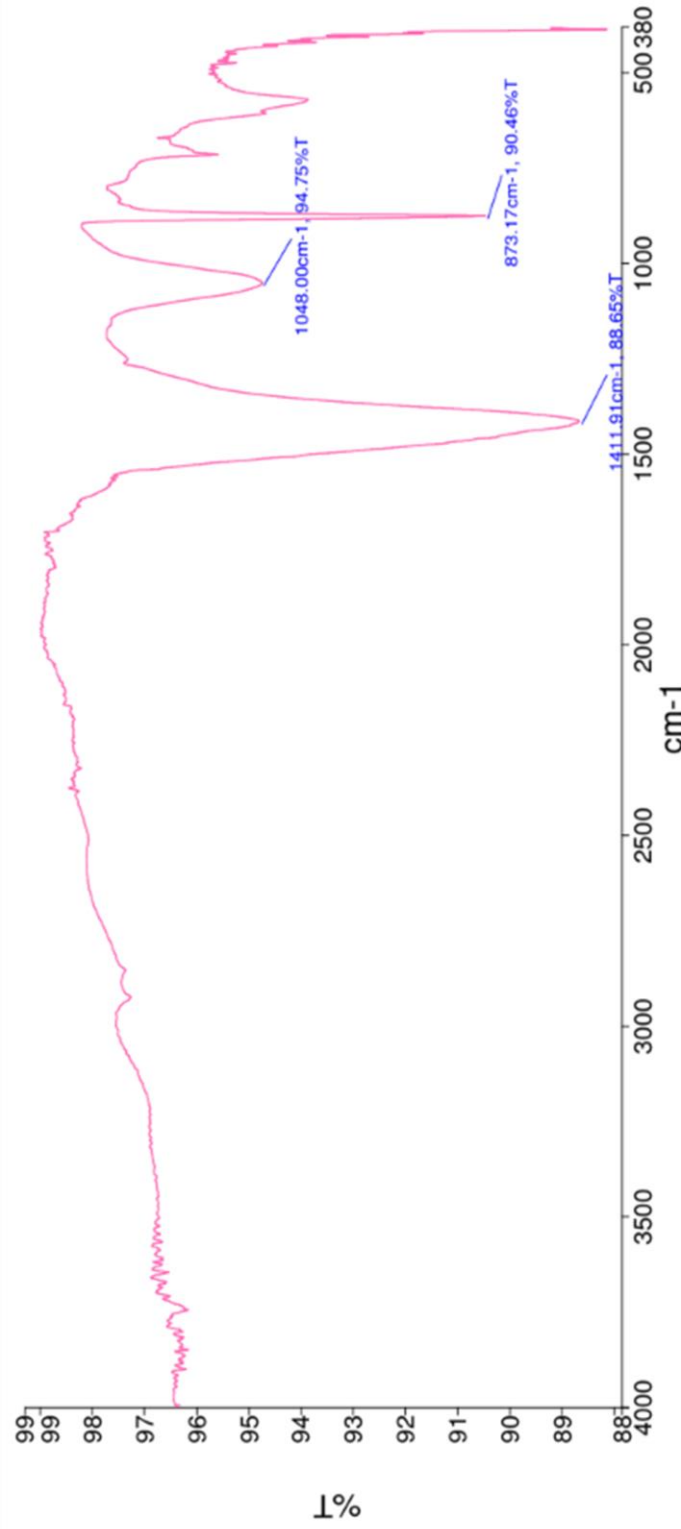
Leyenda Figura No.40: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.41: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Staphylococcus* sp. P.5.2C con medio de cultivo comercial



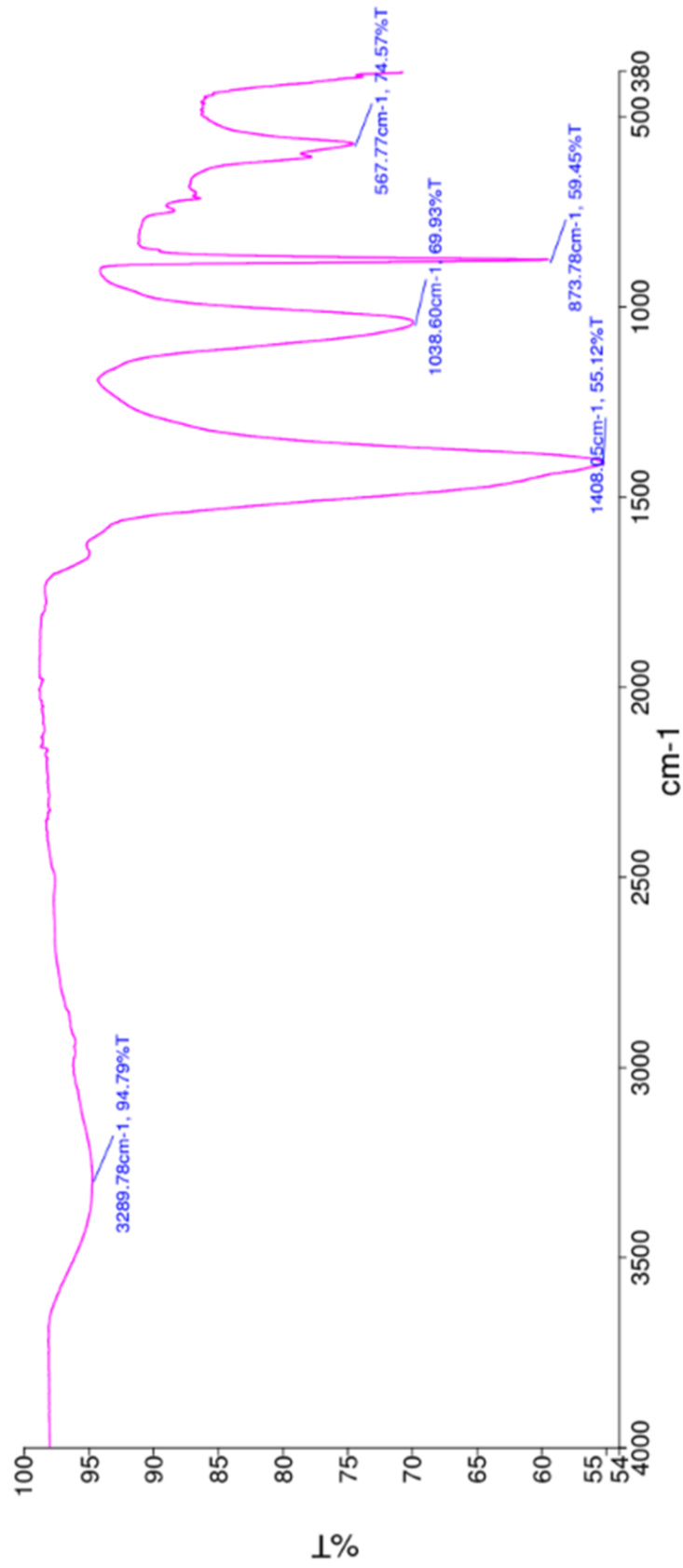
Leyenda Figura No.41: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Staphylococcus* sp. P.5.2C con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.42: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A con medio de cultivo comercial



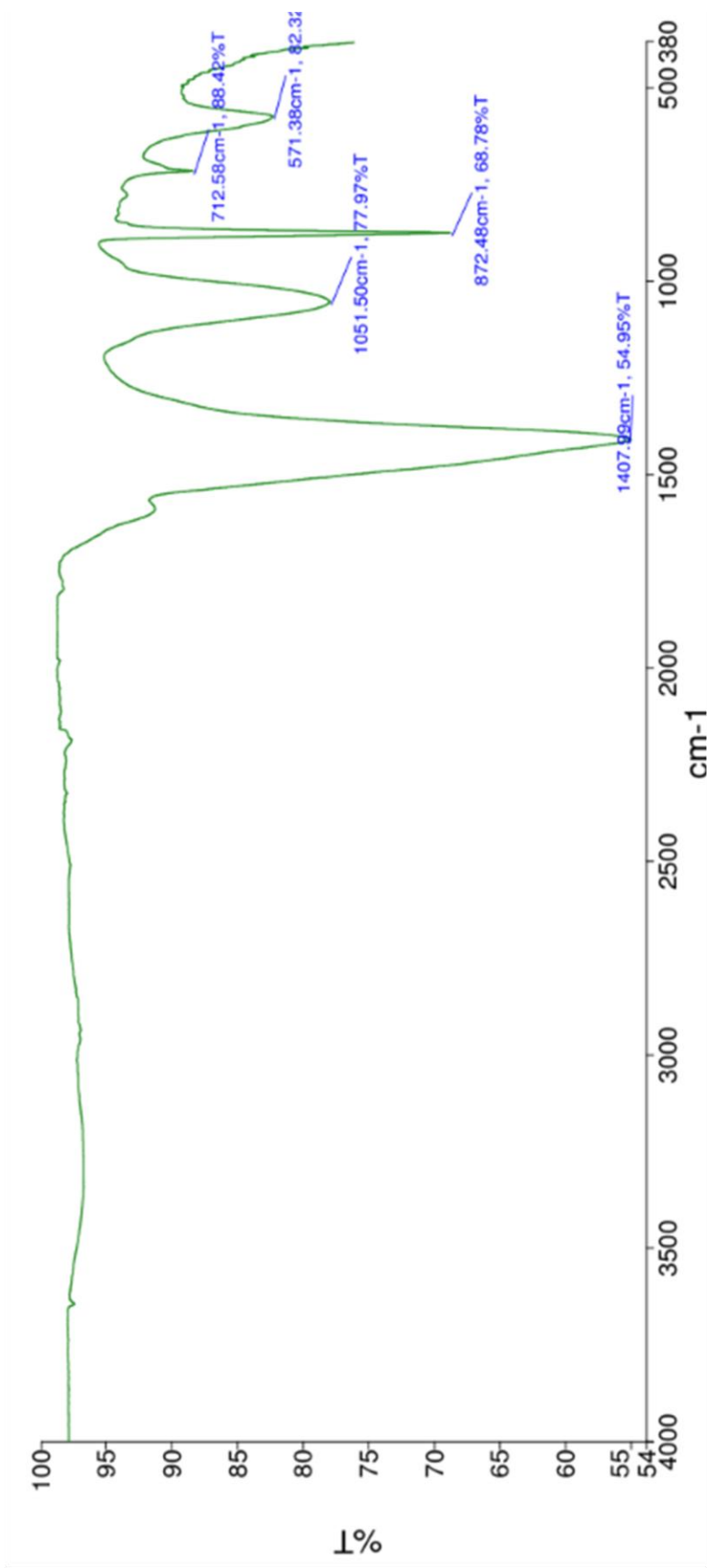
Leyenda Figura No.42: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.3A con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.43: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de P.5.3B con medio de cultivo comercial



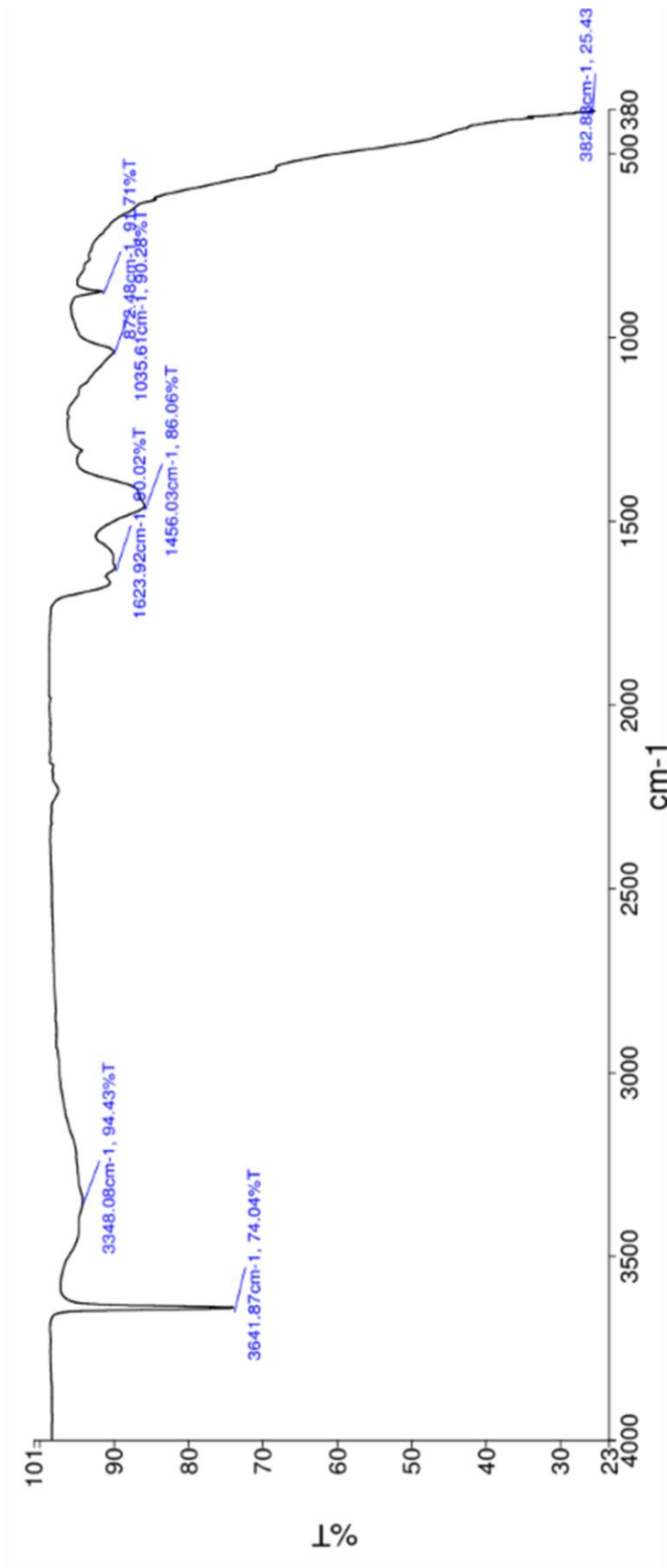
Leyenda Figura No.43: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando la bacteria P.5.3B con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.44: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales P.6.1 con medio de cultivo comercial



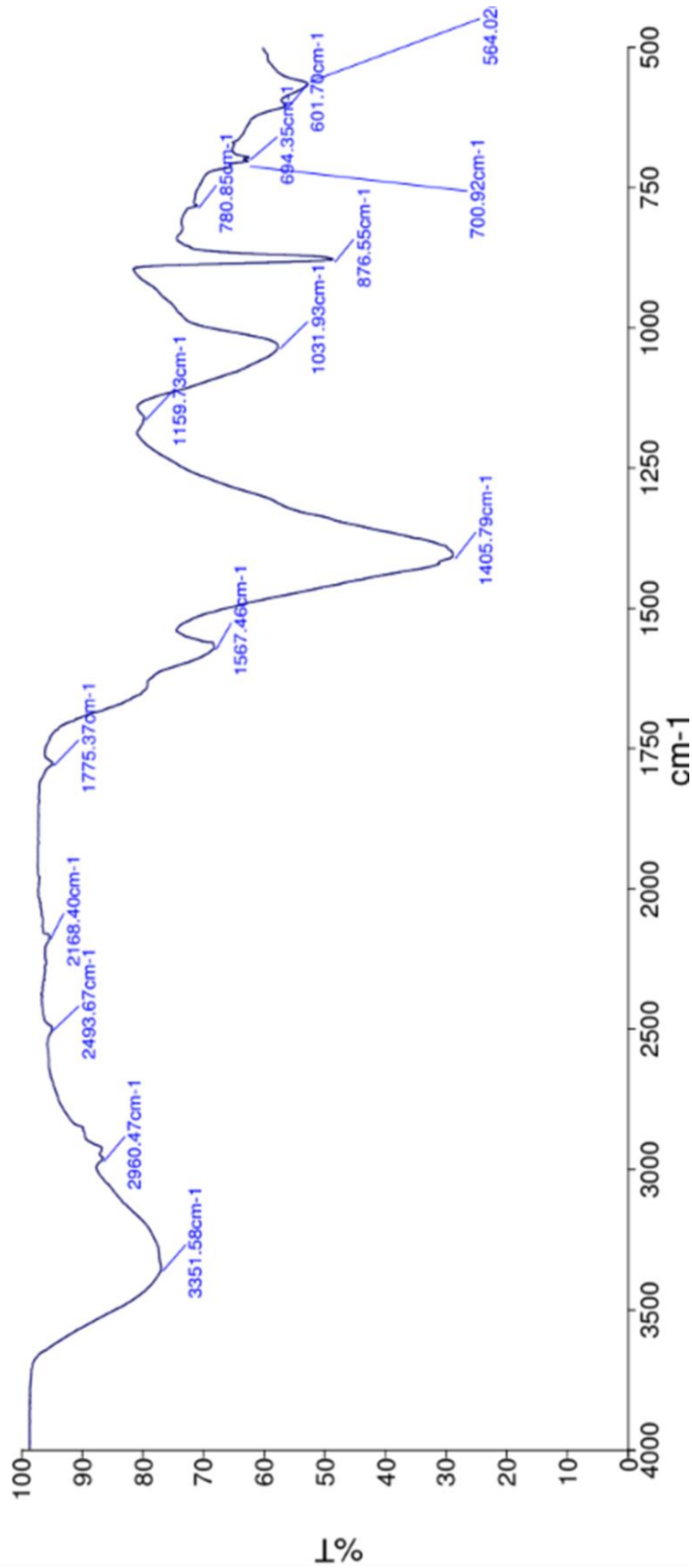
Leyenda Figura No.44: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando Bacillales P.6.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.45: Espectro IR de precipitado extraído de muestra control con medio de cultivo comercial



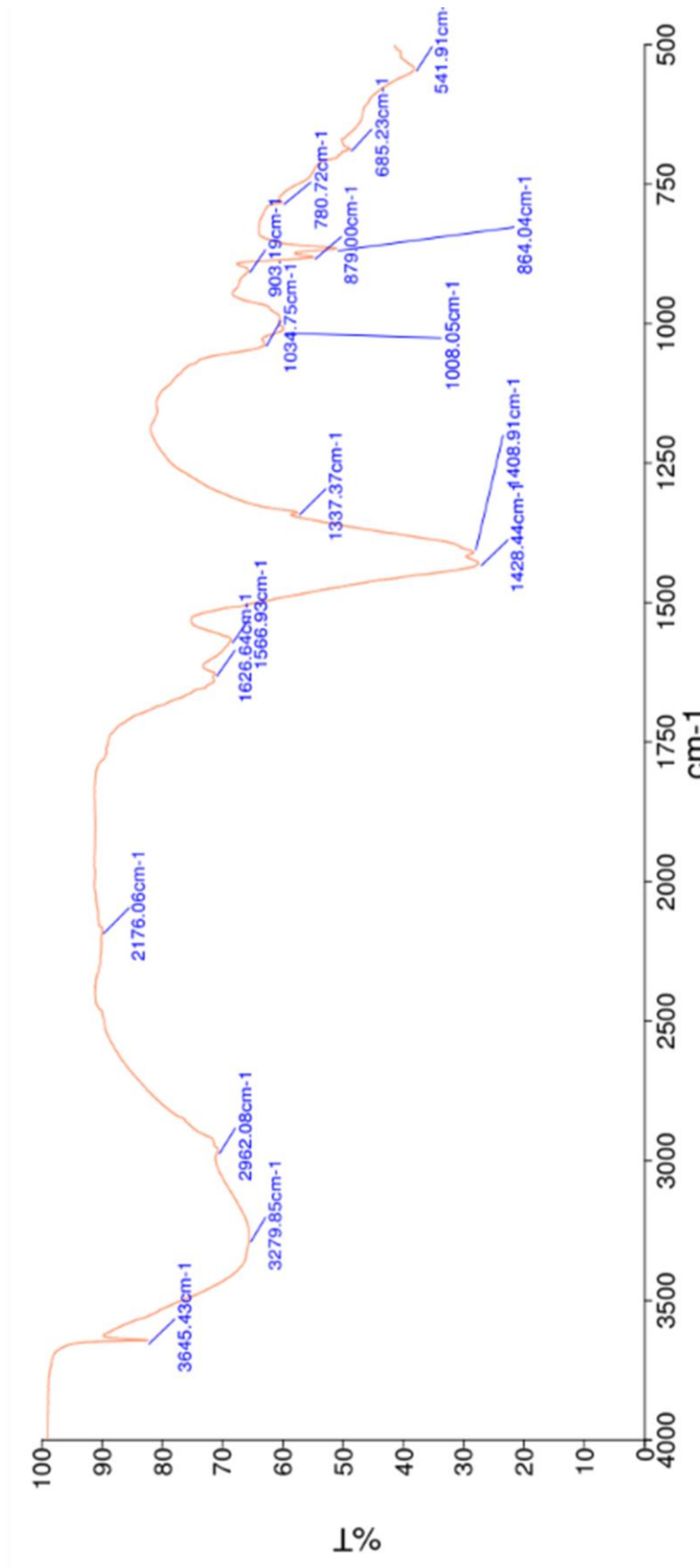
Leyenda Figura No.45: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído del control negativo con un medio de cultivo comercial para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.46: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 réplica 1 con medio de cultivo comercial



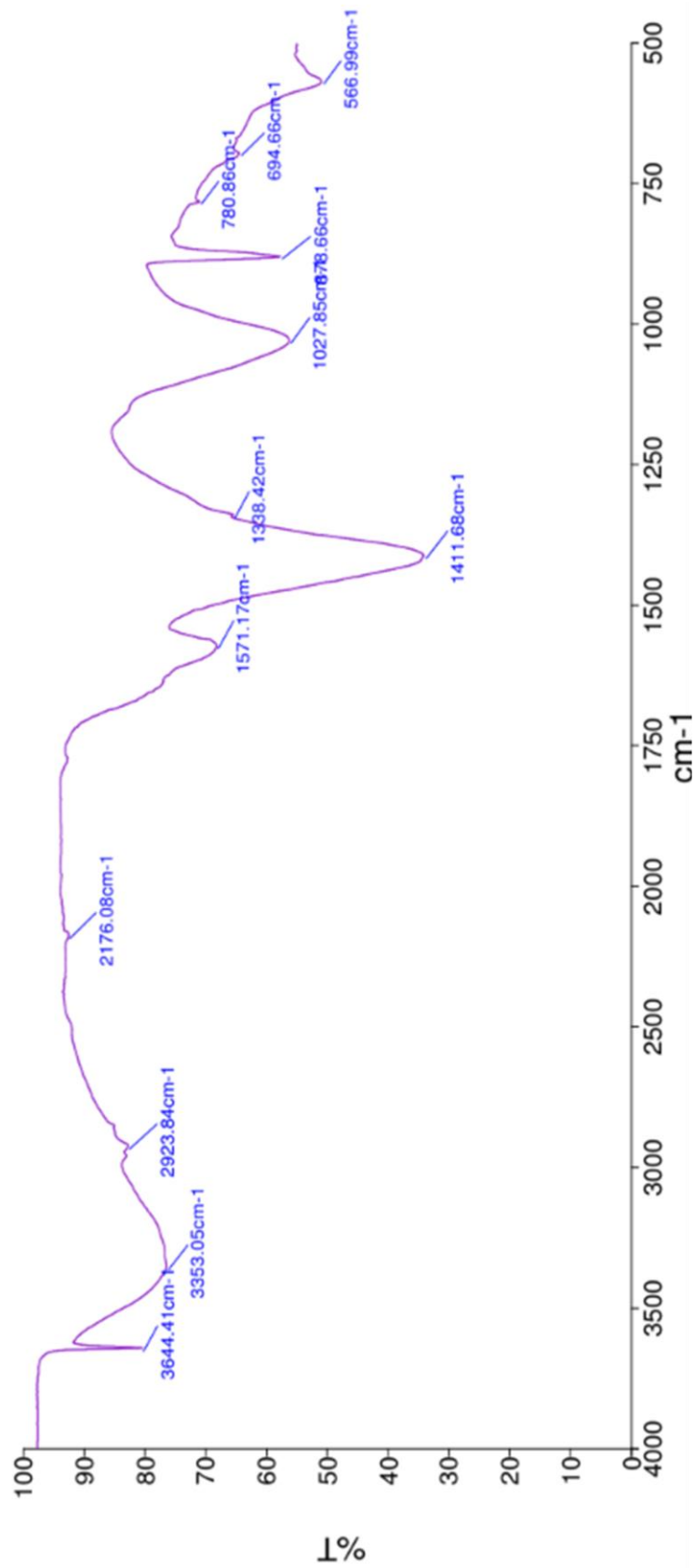
Leyenda Figura No.46: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.47: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 réplica 2 con medio de cultivo comercial



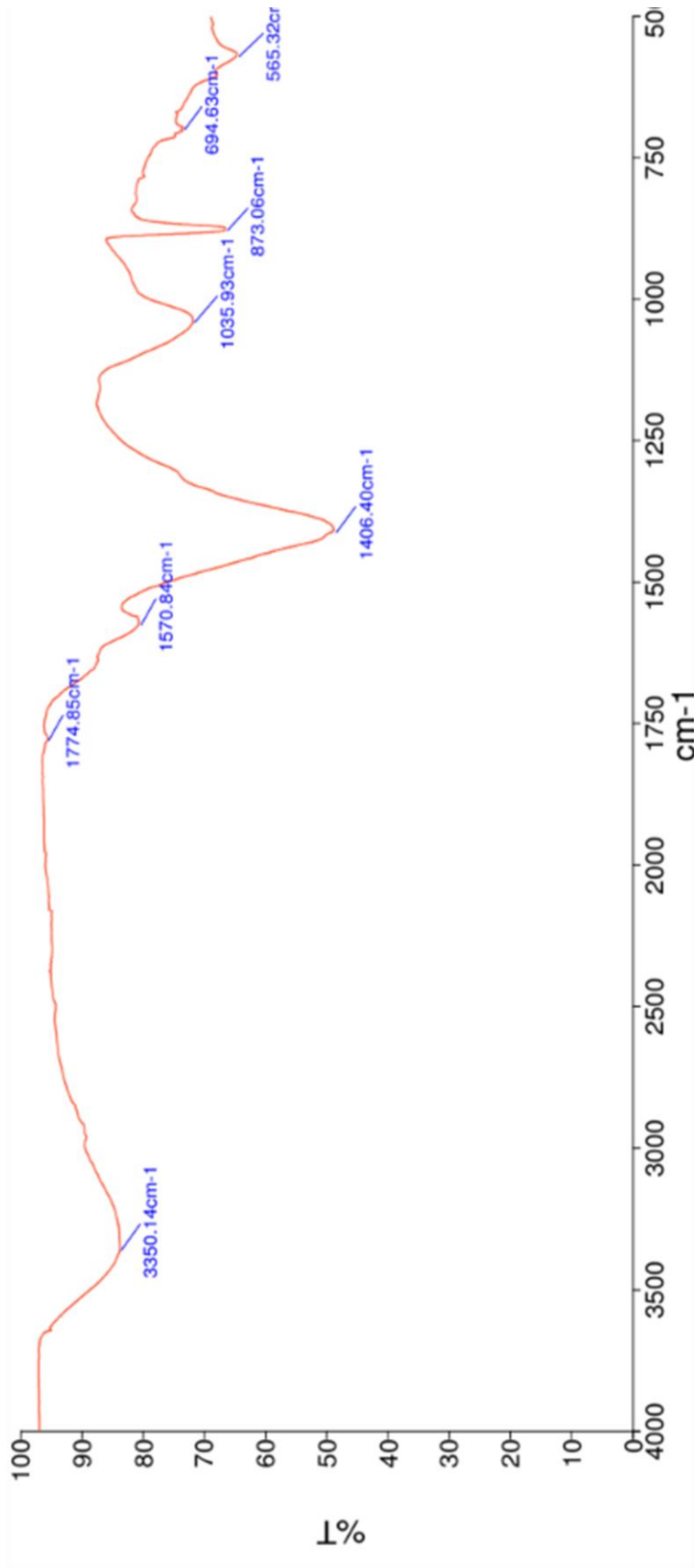
Leyenda Figura No.47: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.48: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 réplica 3 con medio de cultivo comercial



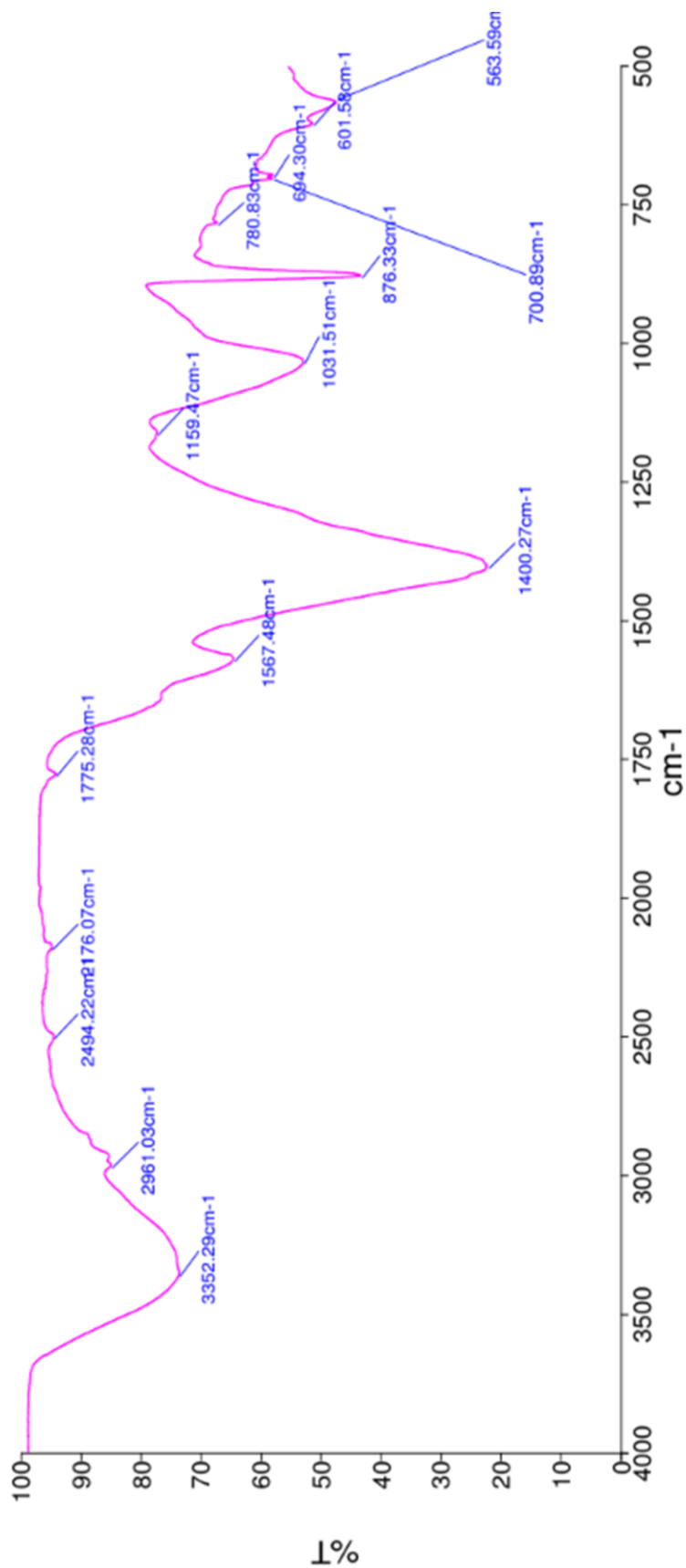
Leyenda Figura No.48: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.49: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A réplica 1 con medio de cultivo comercial



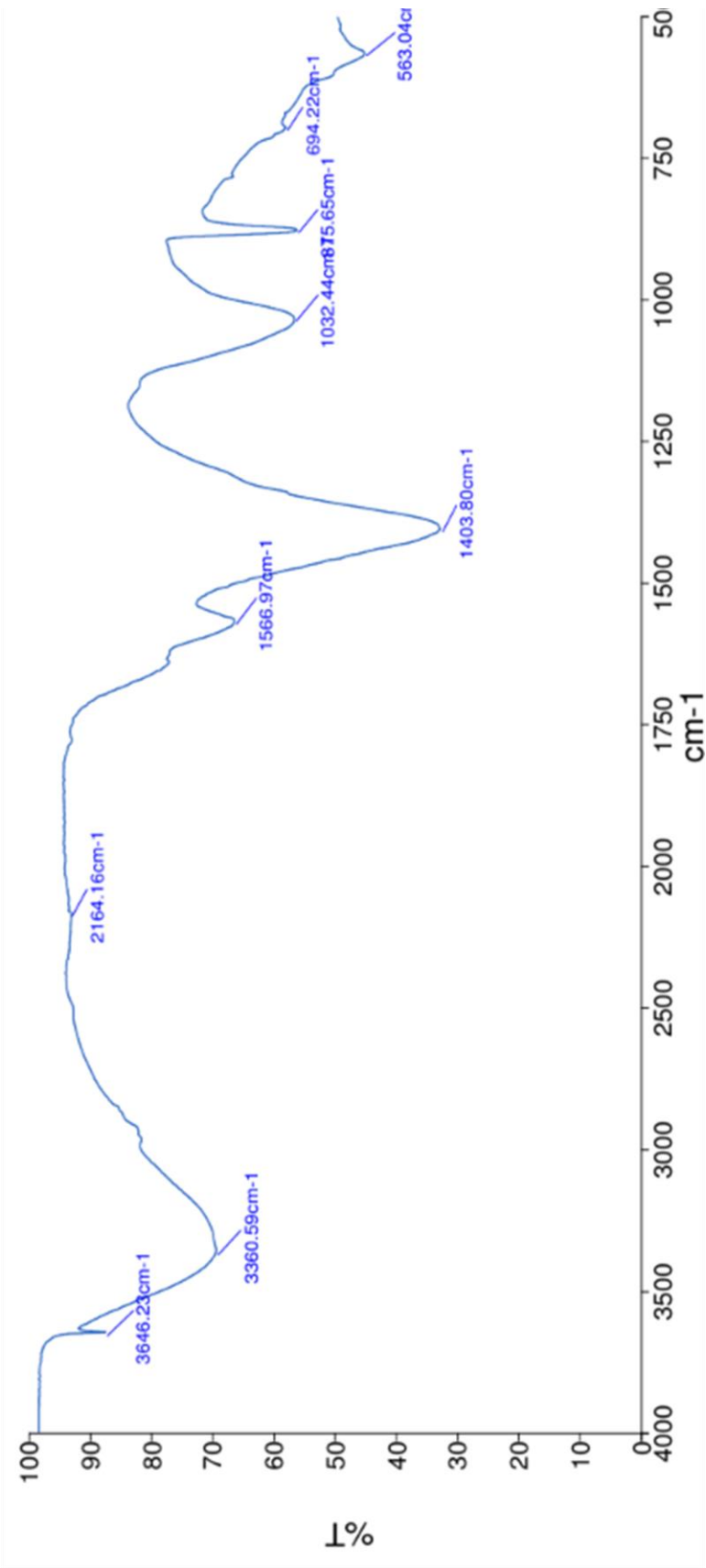
Leyenda Figura No.49: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.50: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A réplica 2 con medio de cultivo comercial



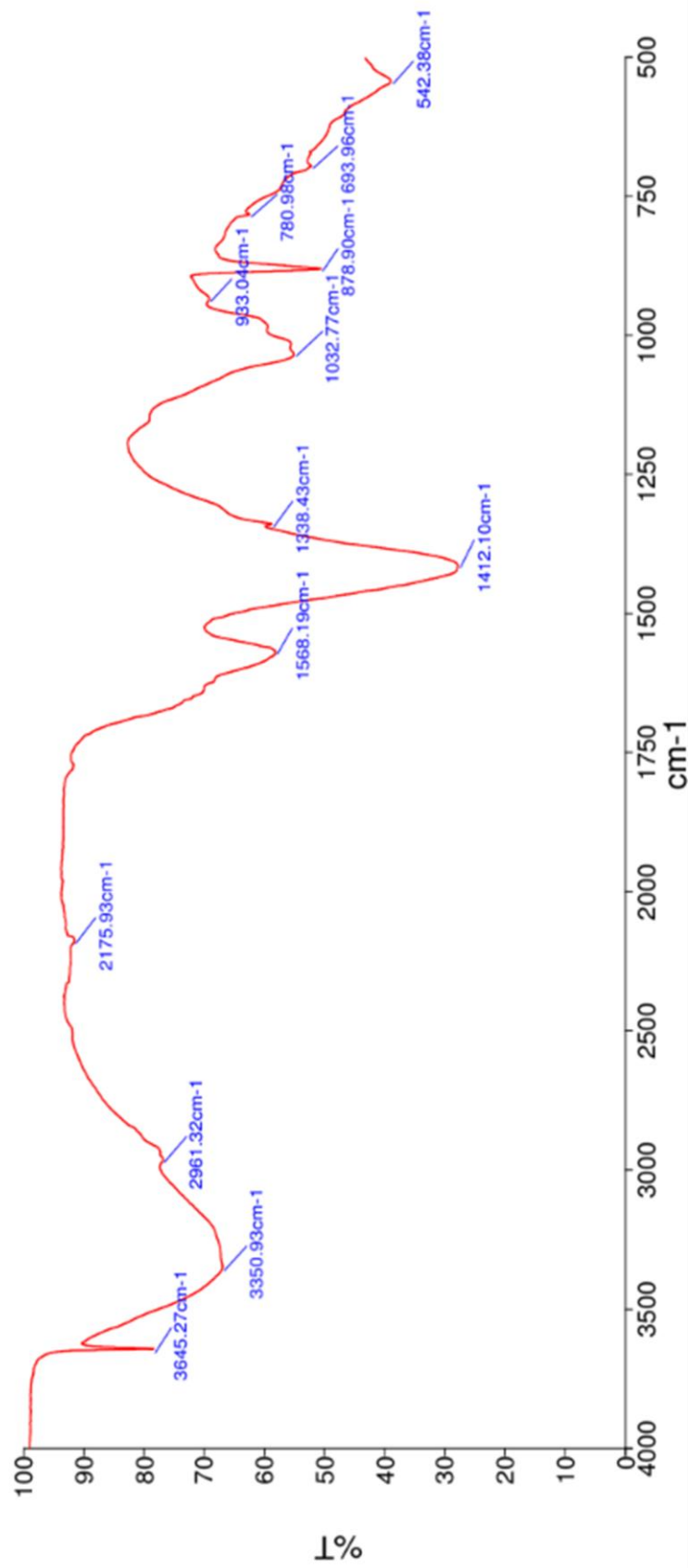
Leyenda Figura No.51: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.51: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A réplica 3 con medio de cultivo comercial



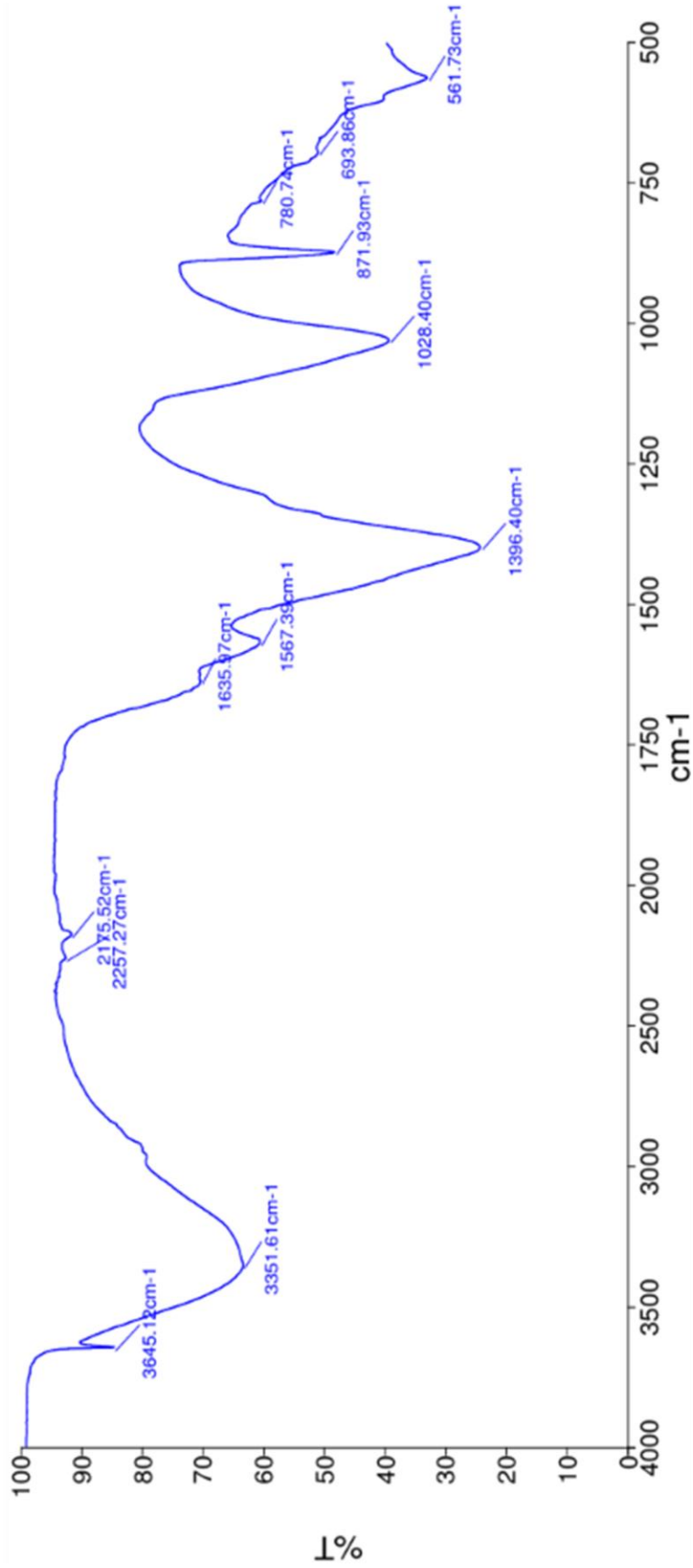
Leyenda Figura No.51: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.52: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana. P.2.2B réplica 1 con medio de cultivo comercial



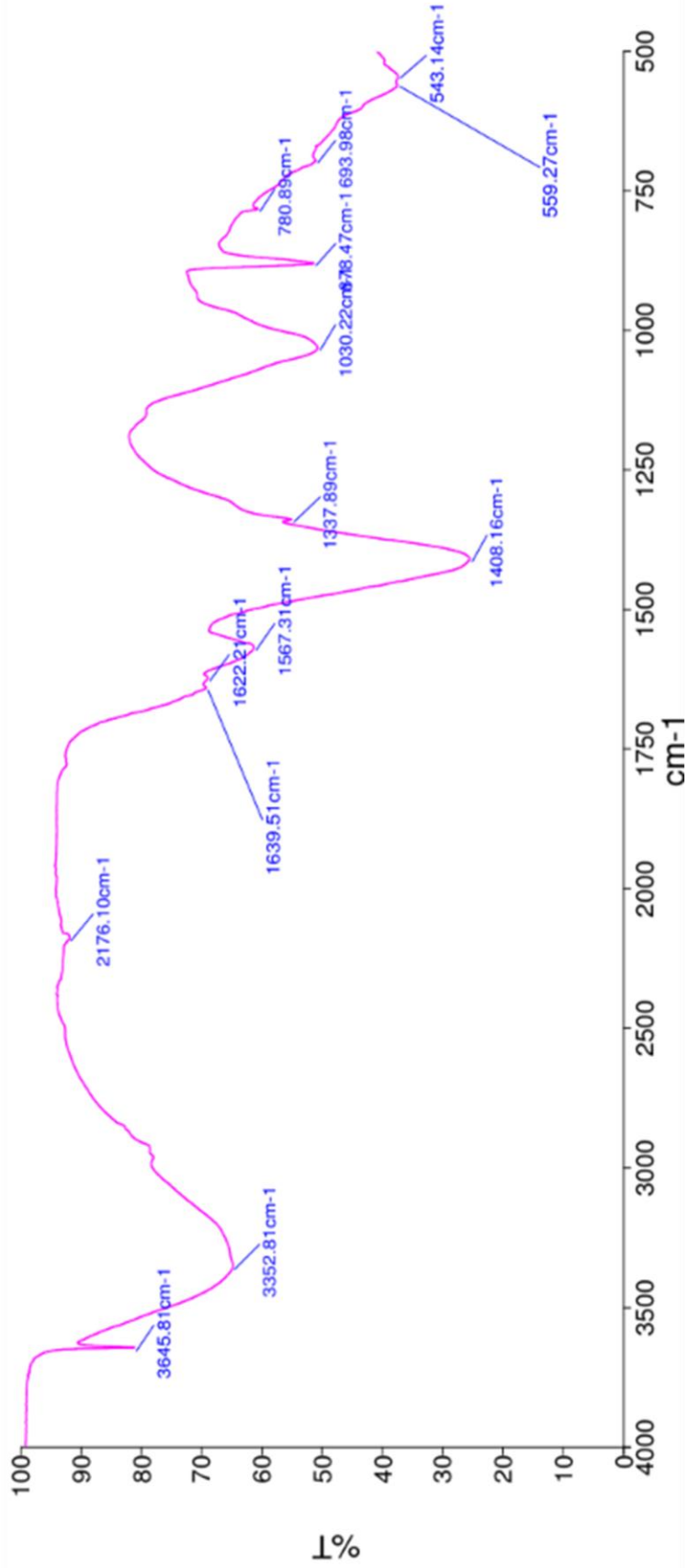
Leyenda Figura No.52: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando la muestra bacteriana. P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.53: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B réplica 2 con medio de cultivo comercial



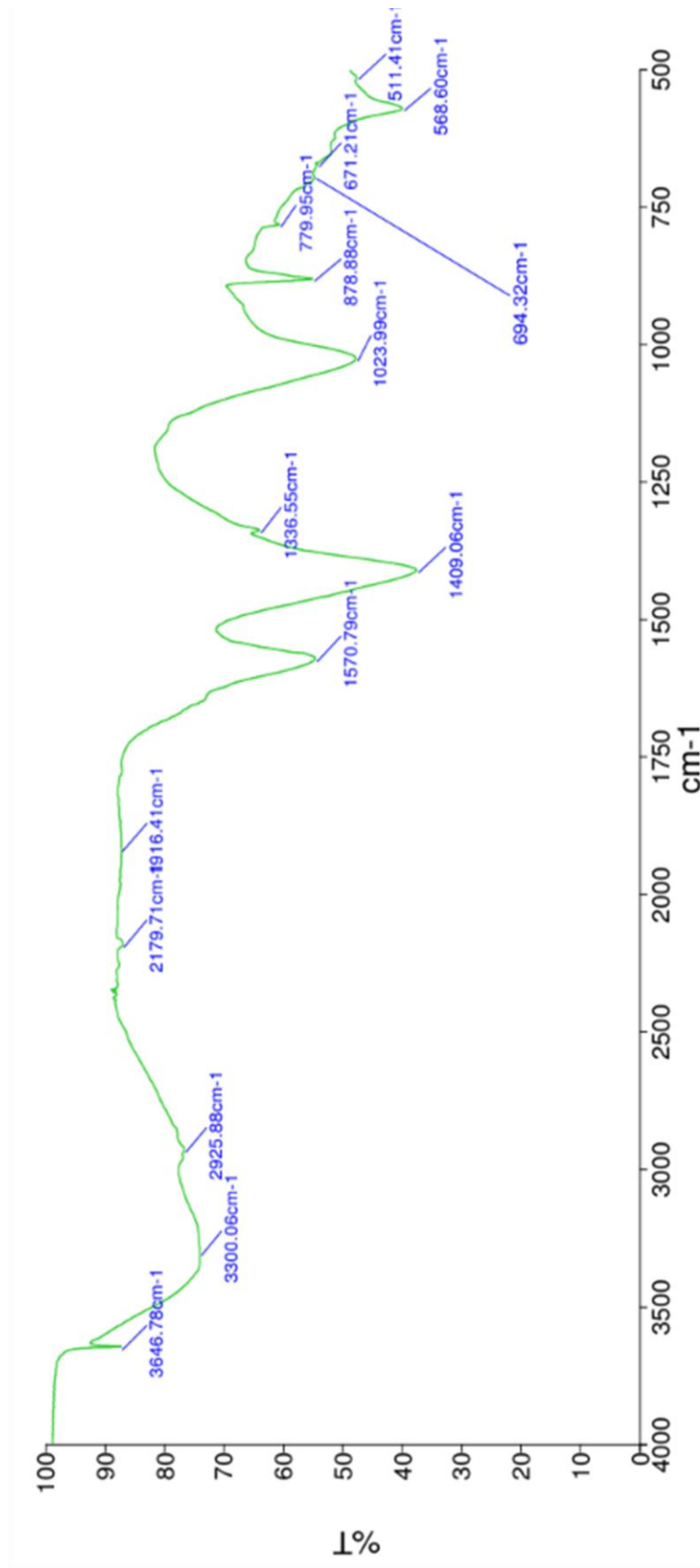
Leyenda Figura No.53: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando la muestra bacteriana P.2.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.54: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B réplica 3 con medio de cultivo comercial



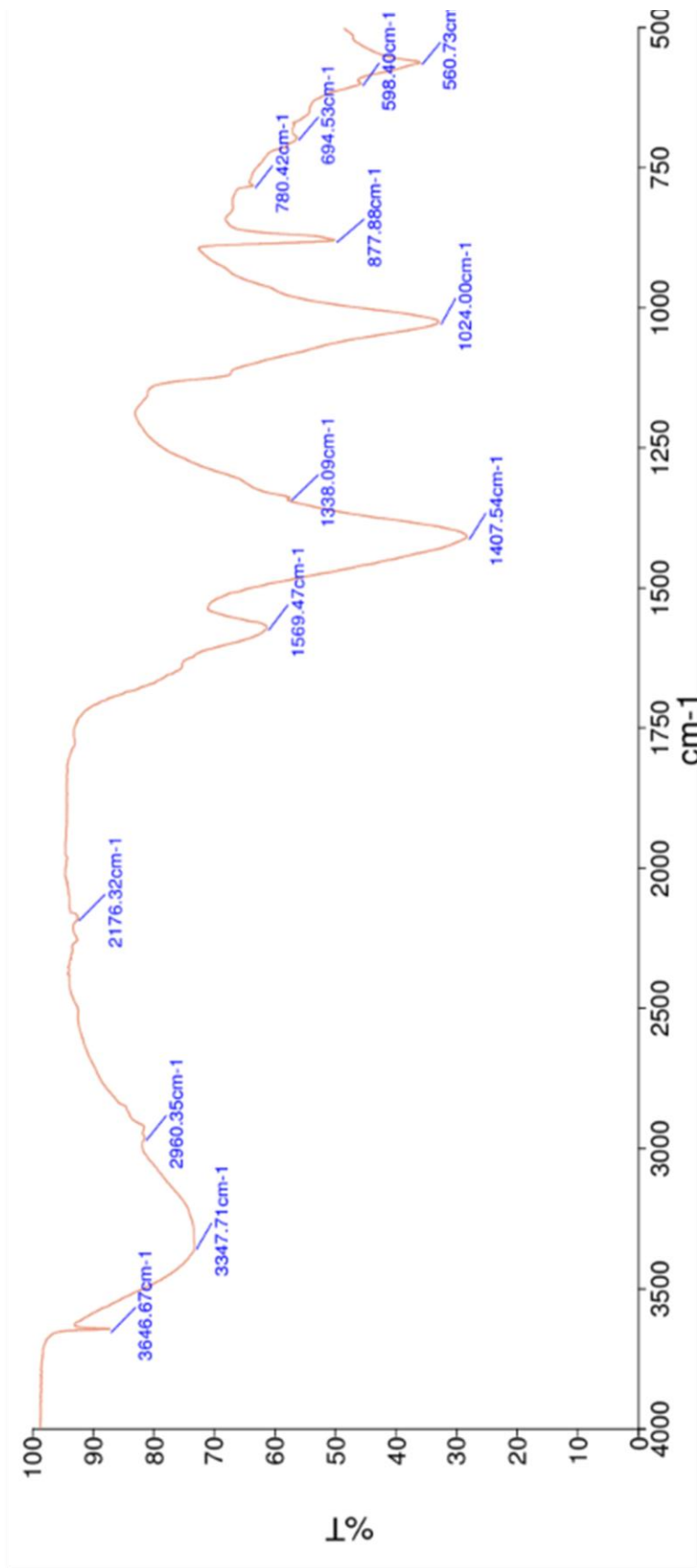
Leyenda Figura No.54: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando la muestra bacteriana P.2.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.55: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A réplica 1 con medio de cultivo comercial



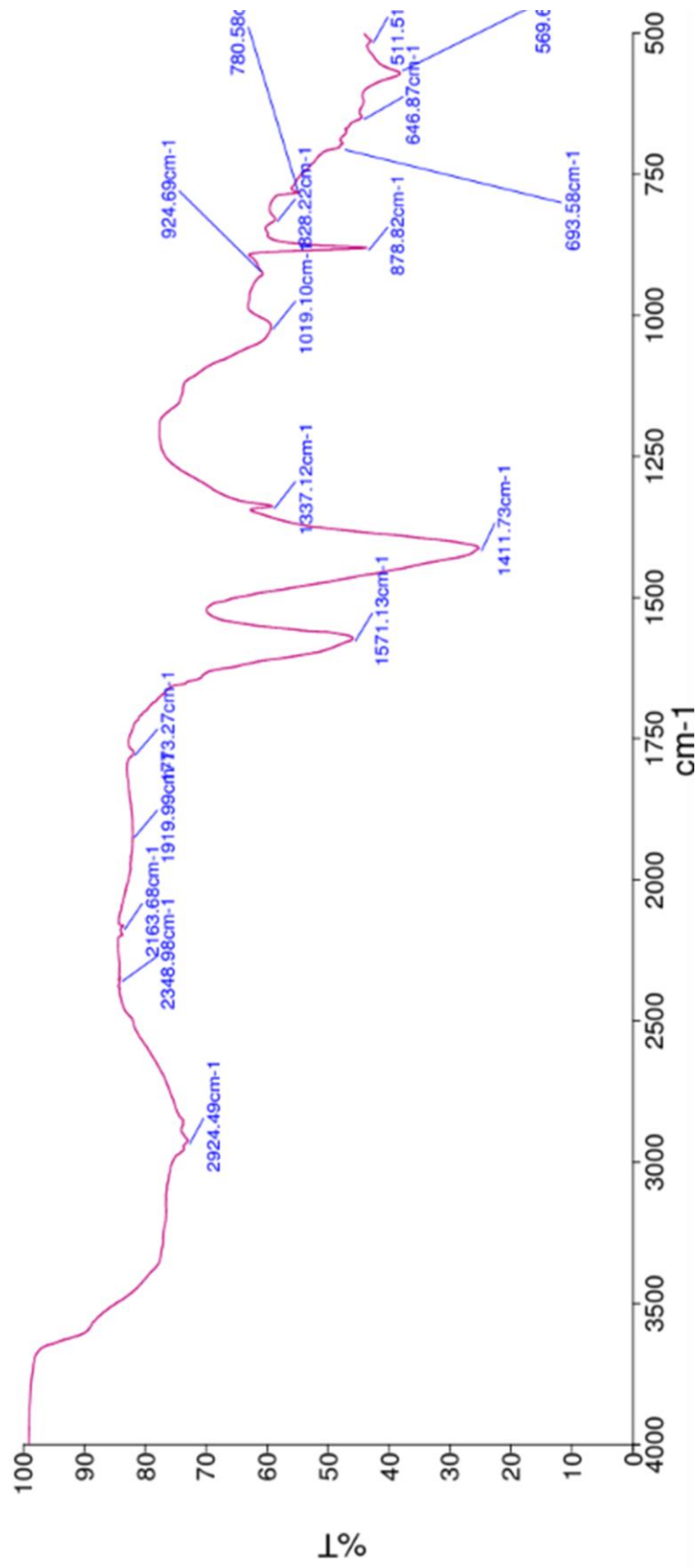
Leyenda Figura No.55: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.56: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A réplica 2 con medio de cultivo comercial



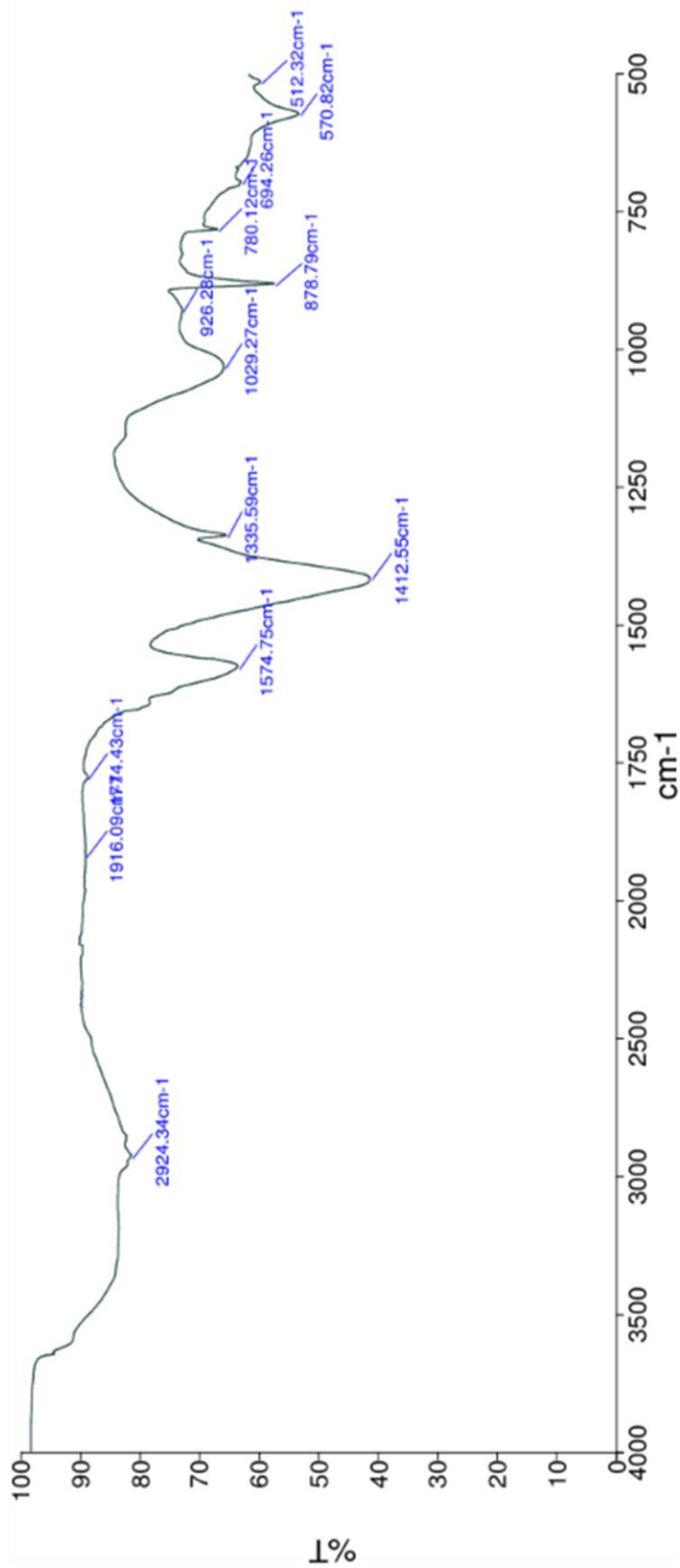
Leyenda Figura No.56: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.57: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A réplica 3 con medio de cultivo comercial



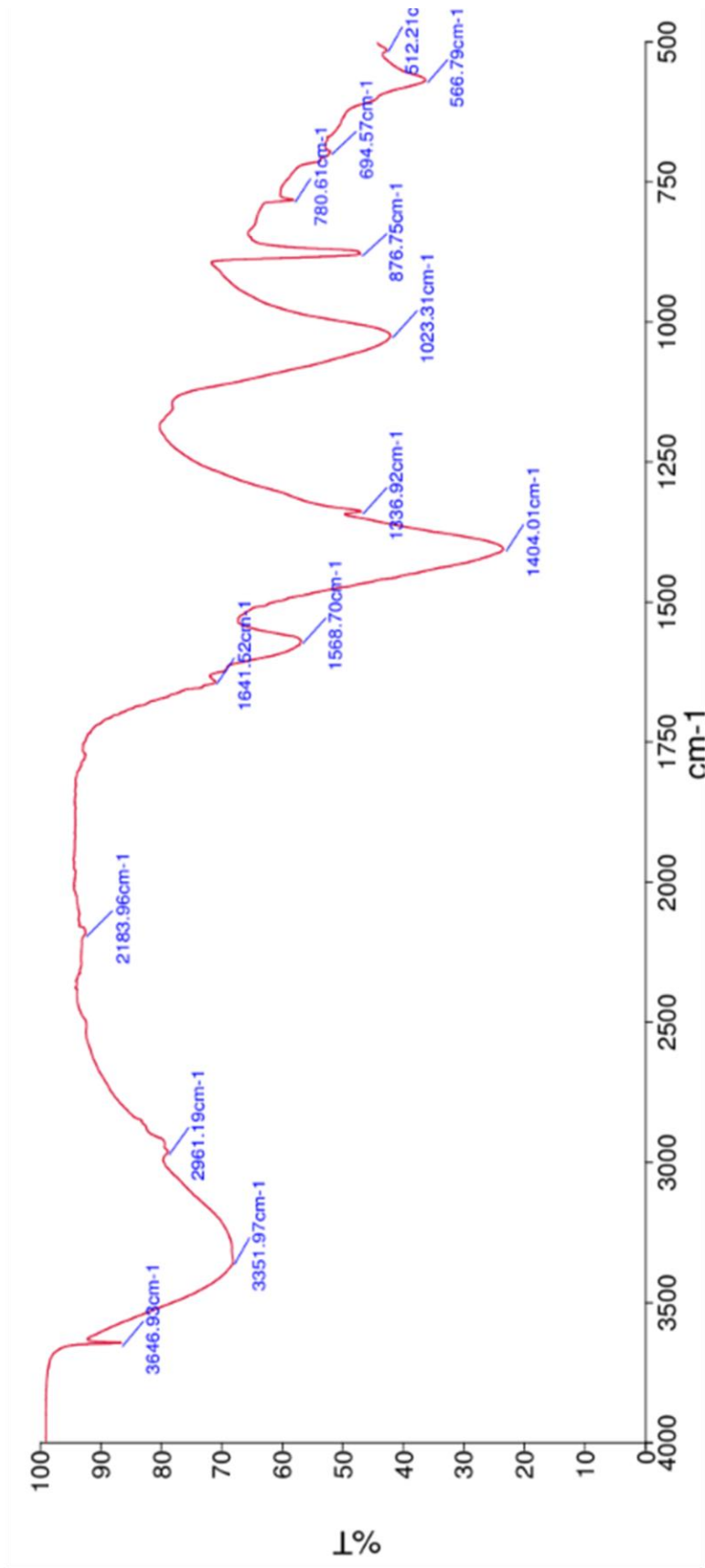
Leyenda Figura No.57: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.1A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.58: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.IB réplica 1 con medio de cultivo comercial



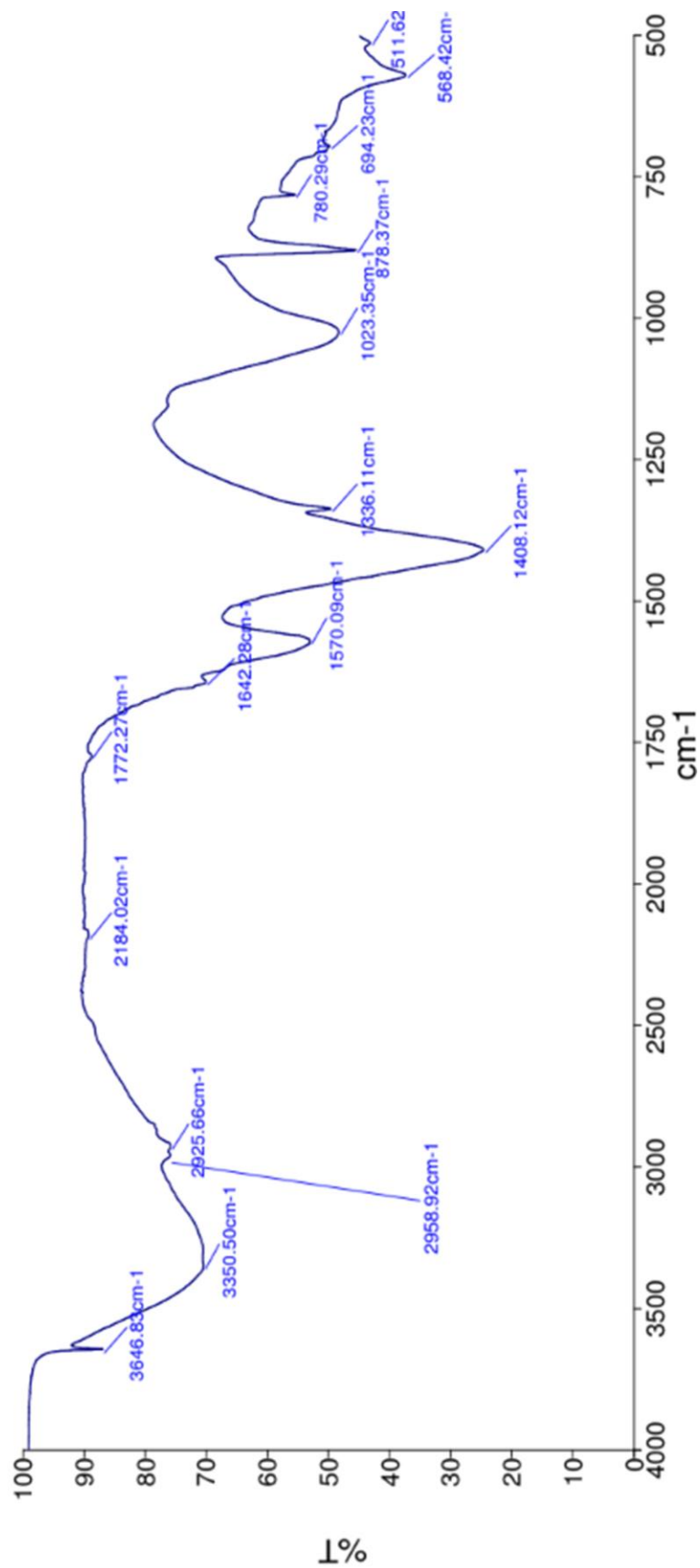
Leyenda Figura No.58: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.IB con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.59: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.IB réplica 2 con medio de cultivo comercial



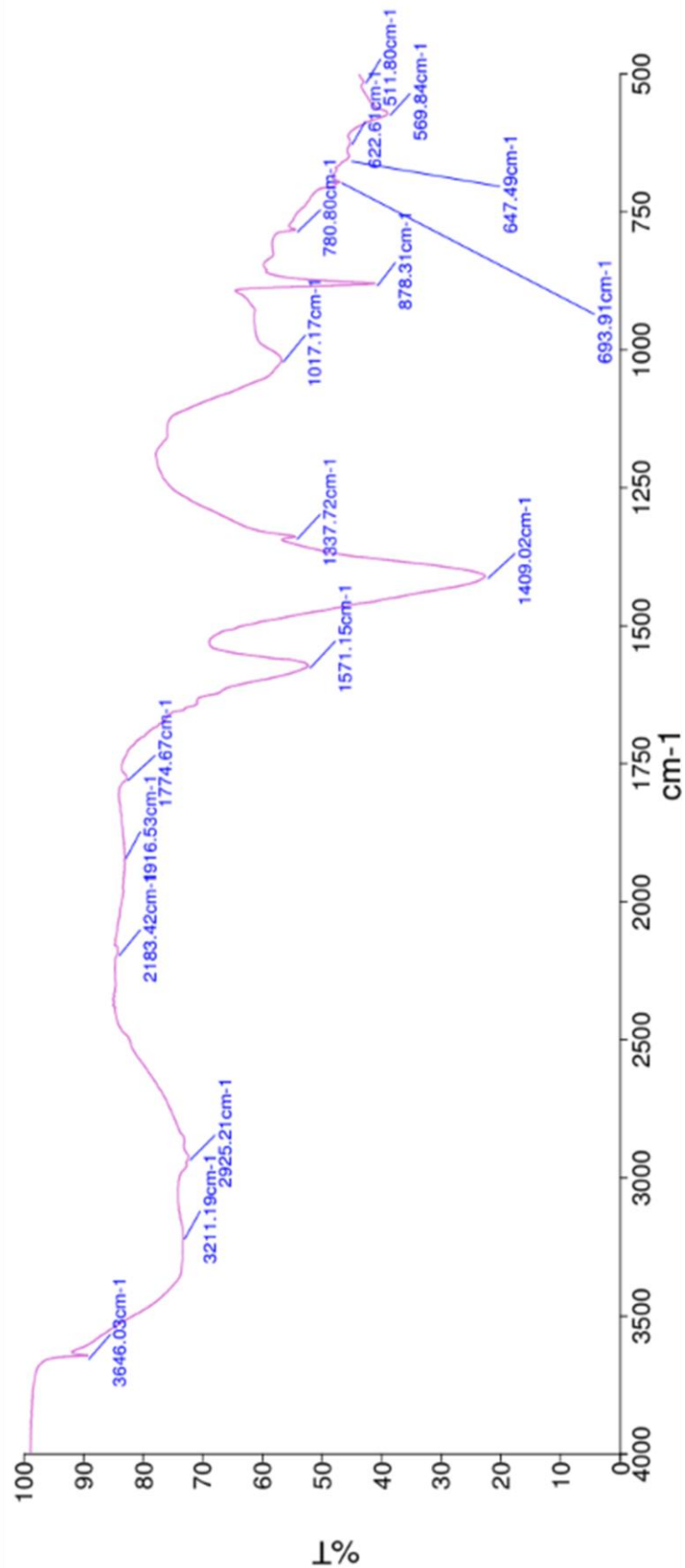
Leyenda Figura No.59: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.4.IB con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.60: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1B réplica 3 con medio de cultivo comercial



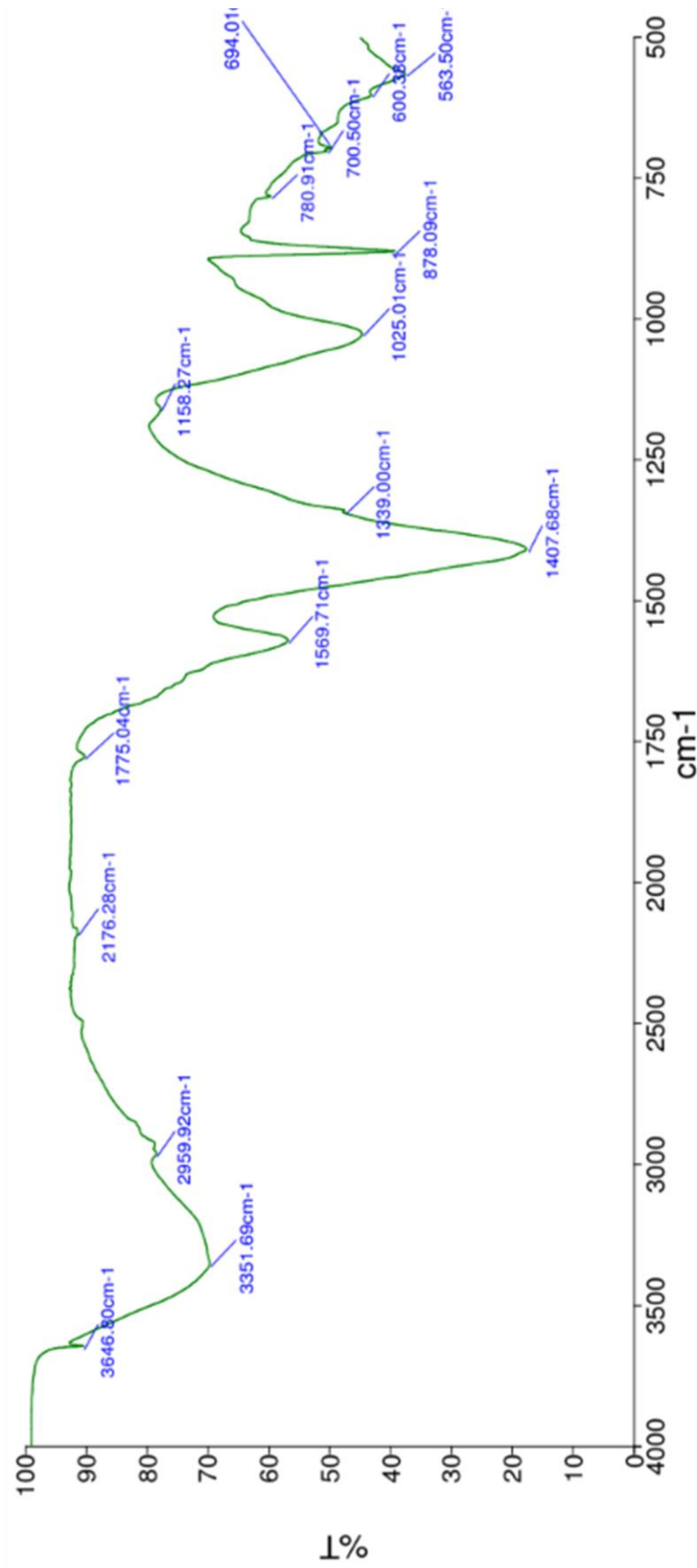
Leyenda Figura No.60: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 *Lysinibacillus* sp. P.4.1B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.61: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A réplica 1 con medio de cultivo comercial



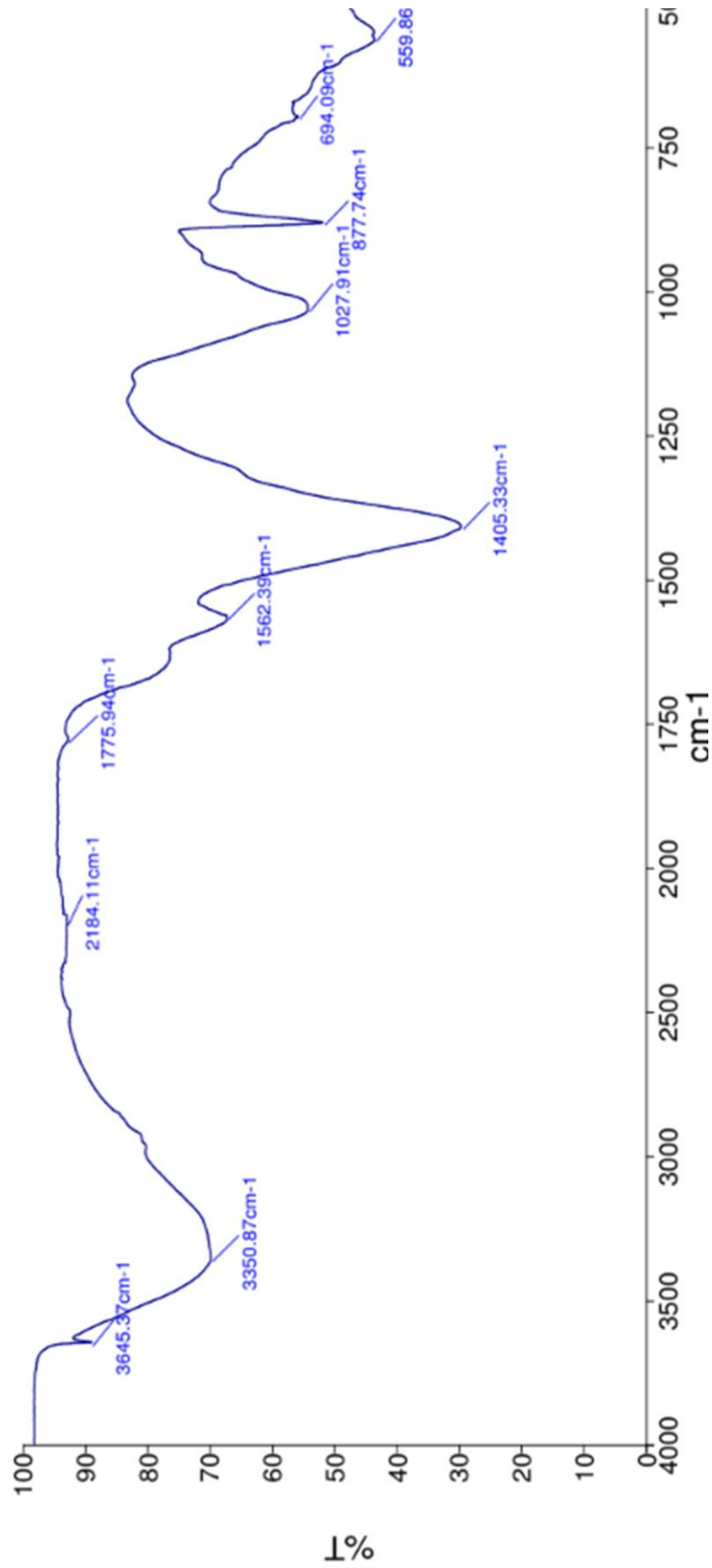
Leyenda Figura No.61: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.62: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A réplica 2 con medio de cultivo comercial



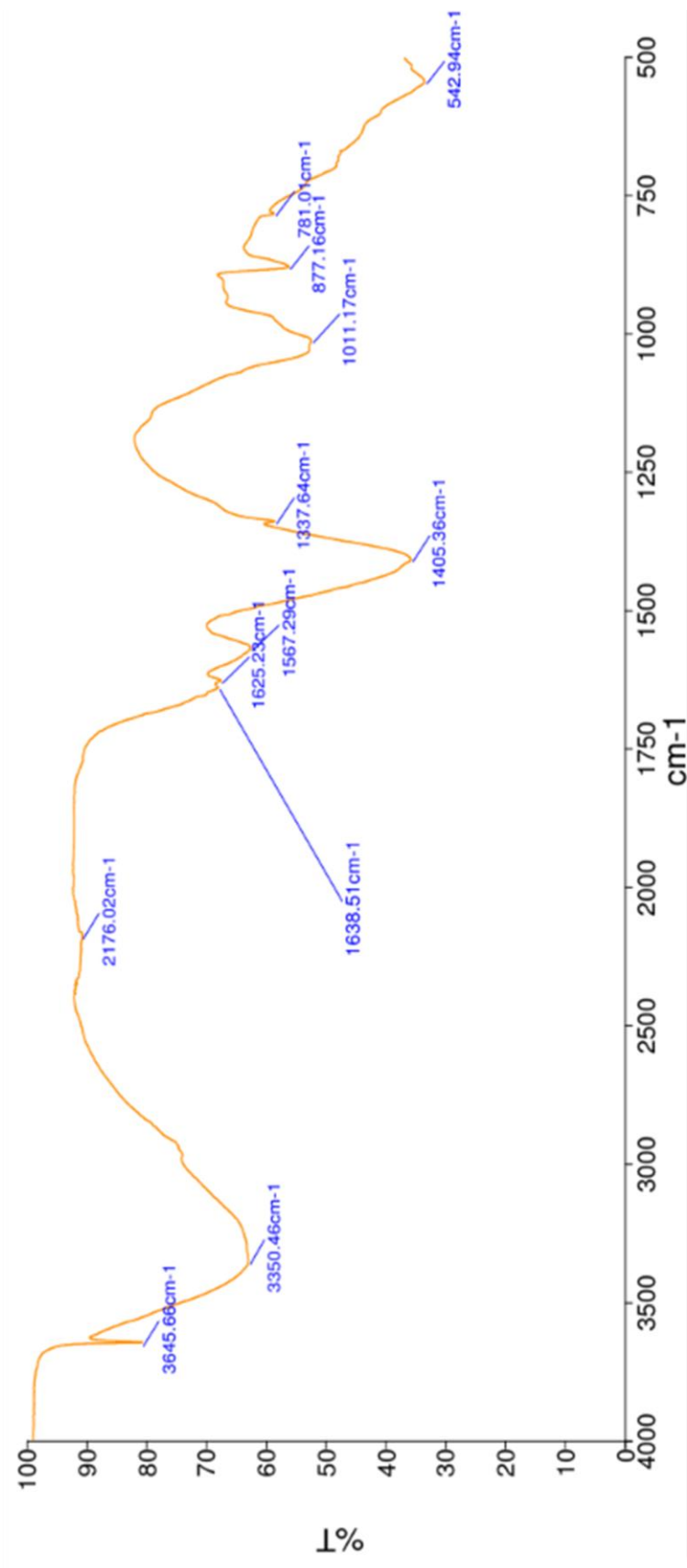
Leyenda Figura No.62: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.63: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A réplica 3 con medio de cultivo comercial



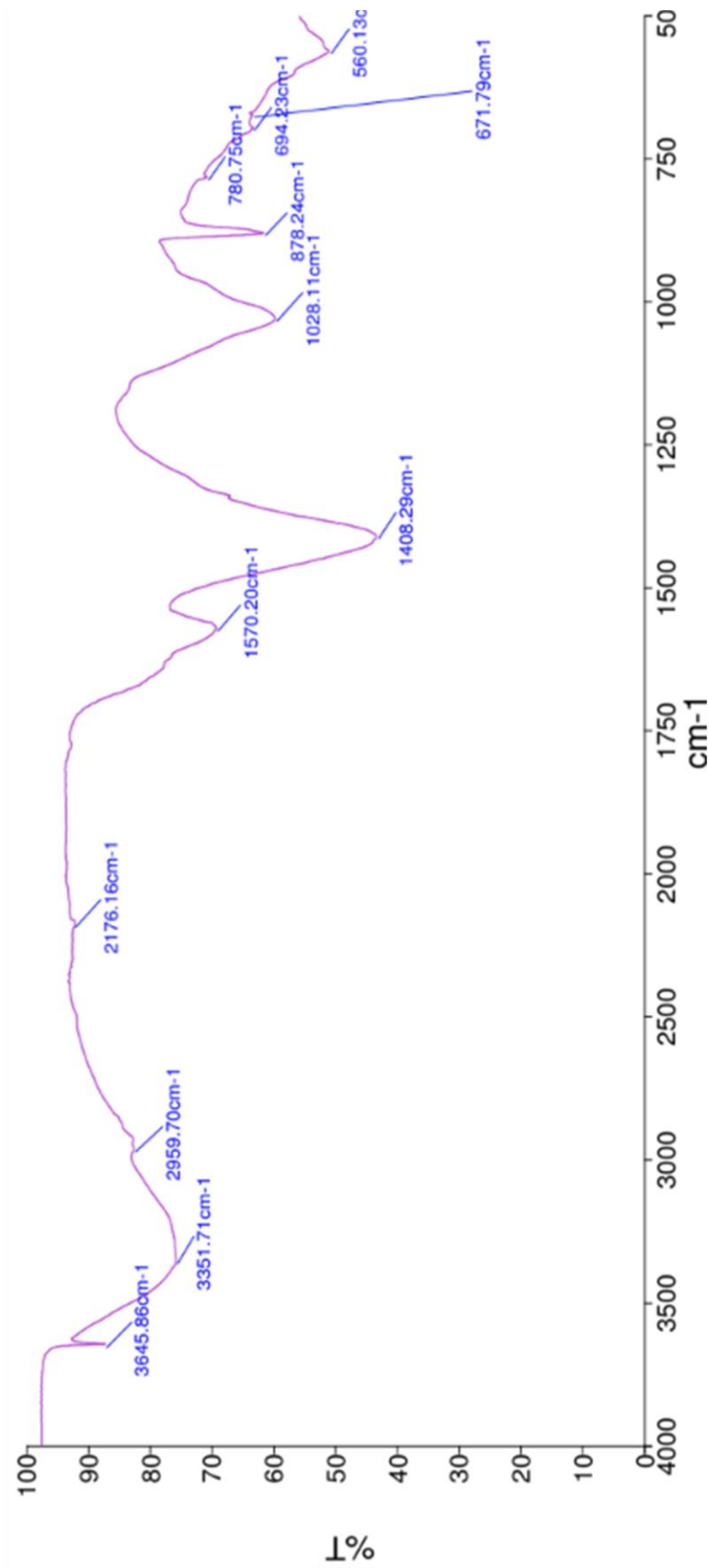
Leyenda Figura No.63: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.64: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B réplica 1 con medio de cultivo comercial



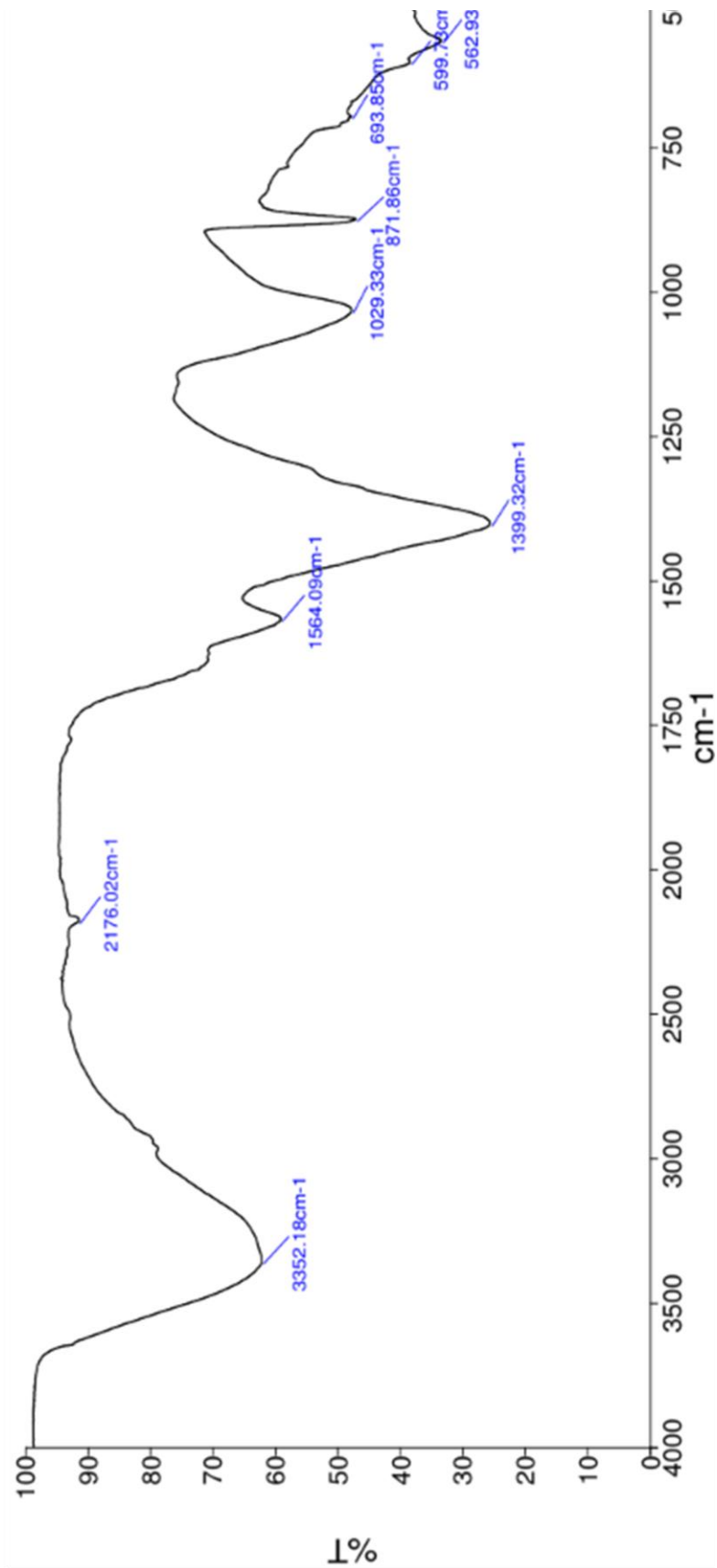
Leyenda Figura No.64: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.65: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B réplica 2 con medio de cultivo comercial



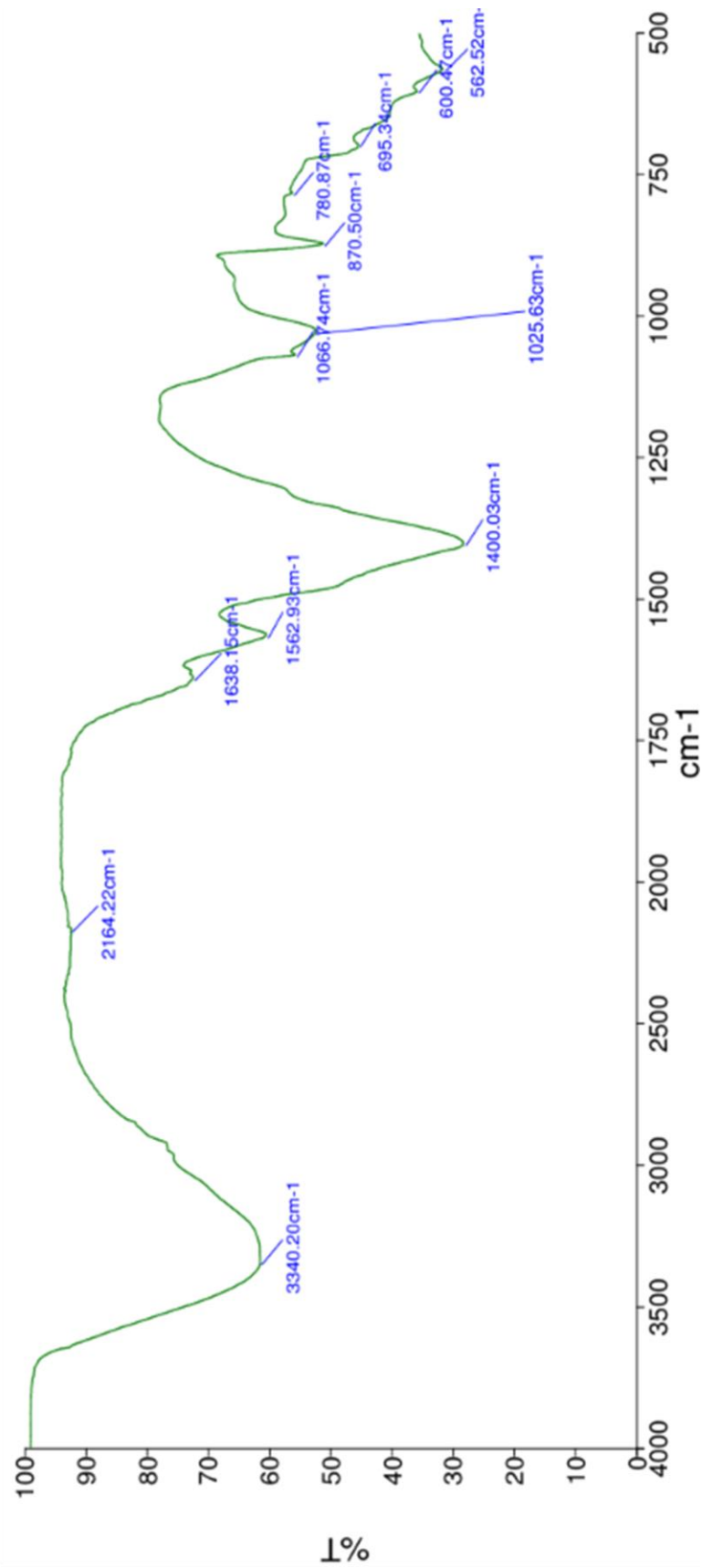
Leyenda Figura No.65: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.66: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B réplica 3 con medio de cultivo comercial



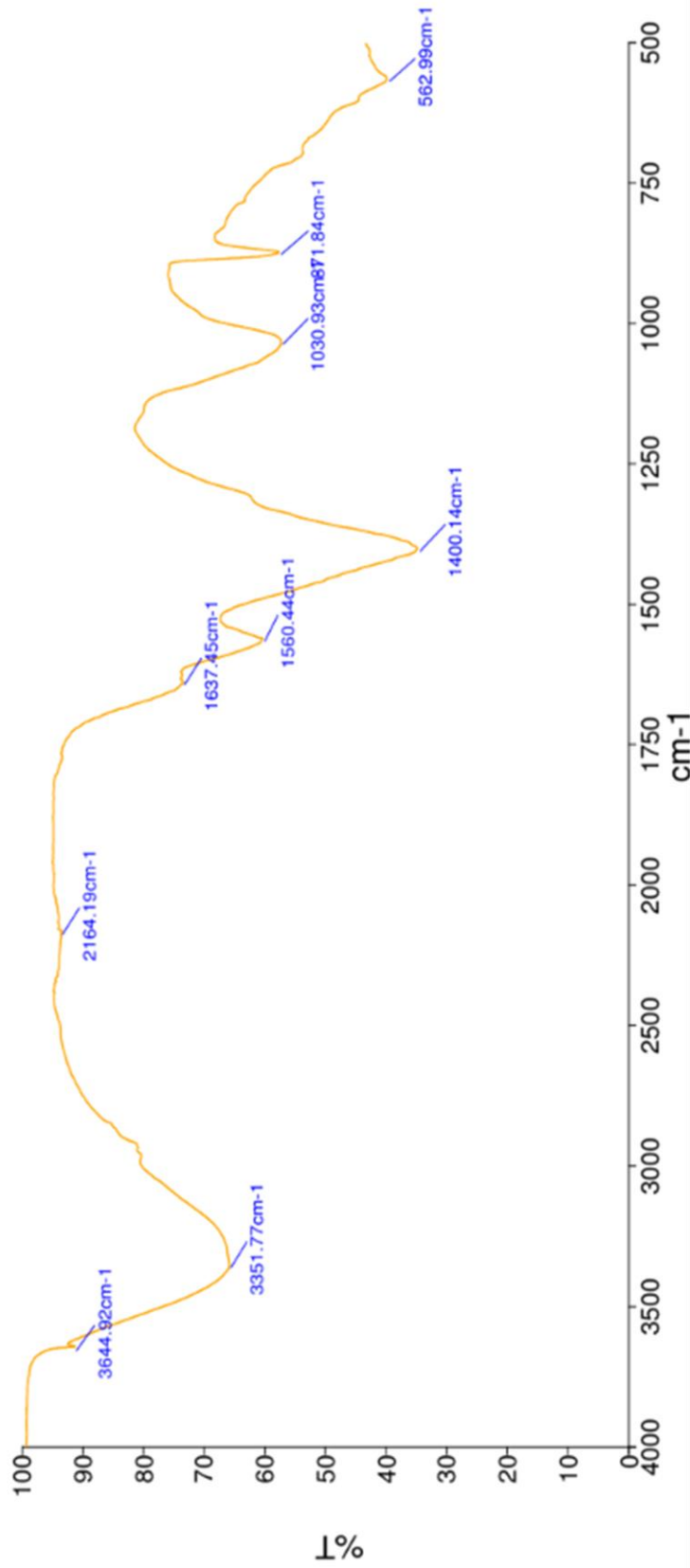
Leyenda Figura No.66: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.2B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.67: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Staphylococcus* sp. P.5.2C réplica 1 con medio de cultivo comercial



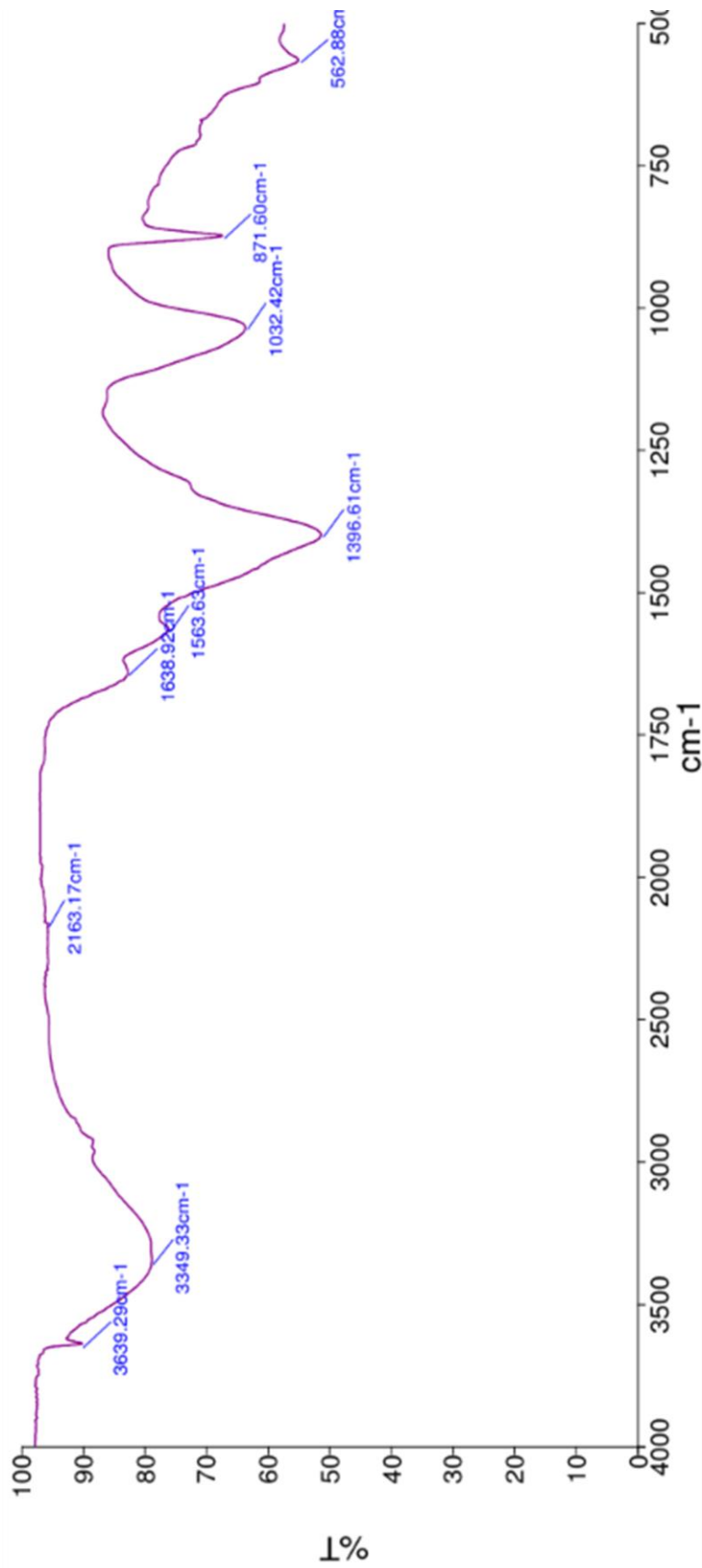
Leyenda Figura No.67: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Staphylococcus* sp. P.5.2C con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.68: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Staphylococcus* sp. P.5.2C réplica 2 con medio de cultivo comercial



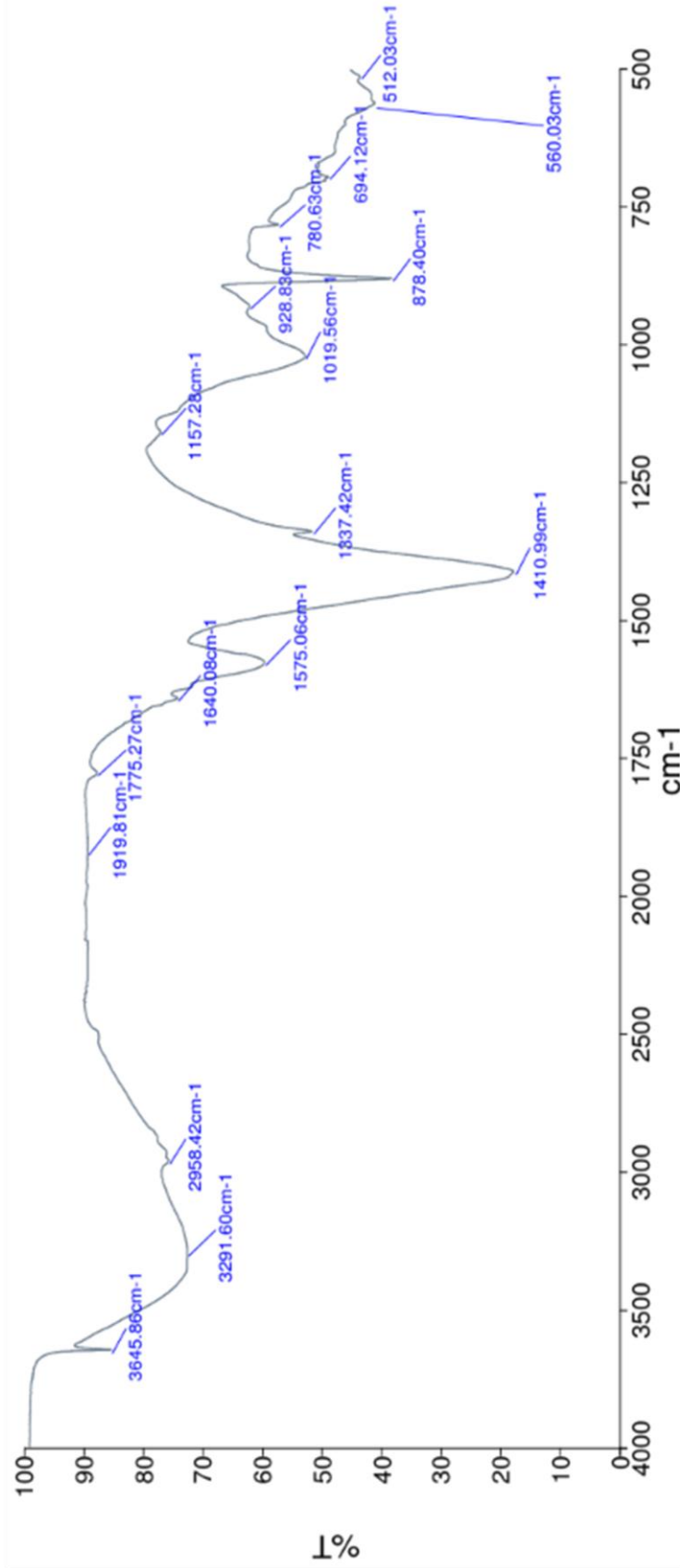
Leyenda Figura No.68: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Staphylococcus* sp. P.5.2C con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.69: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Staphylococcus* sp. P.5.2C réplica 3 con medio de cultivo comercial



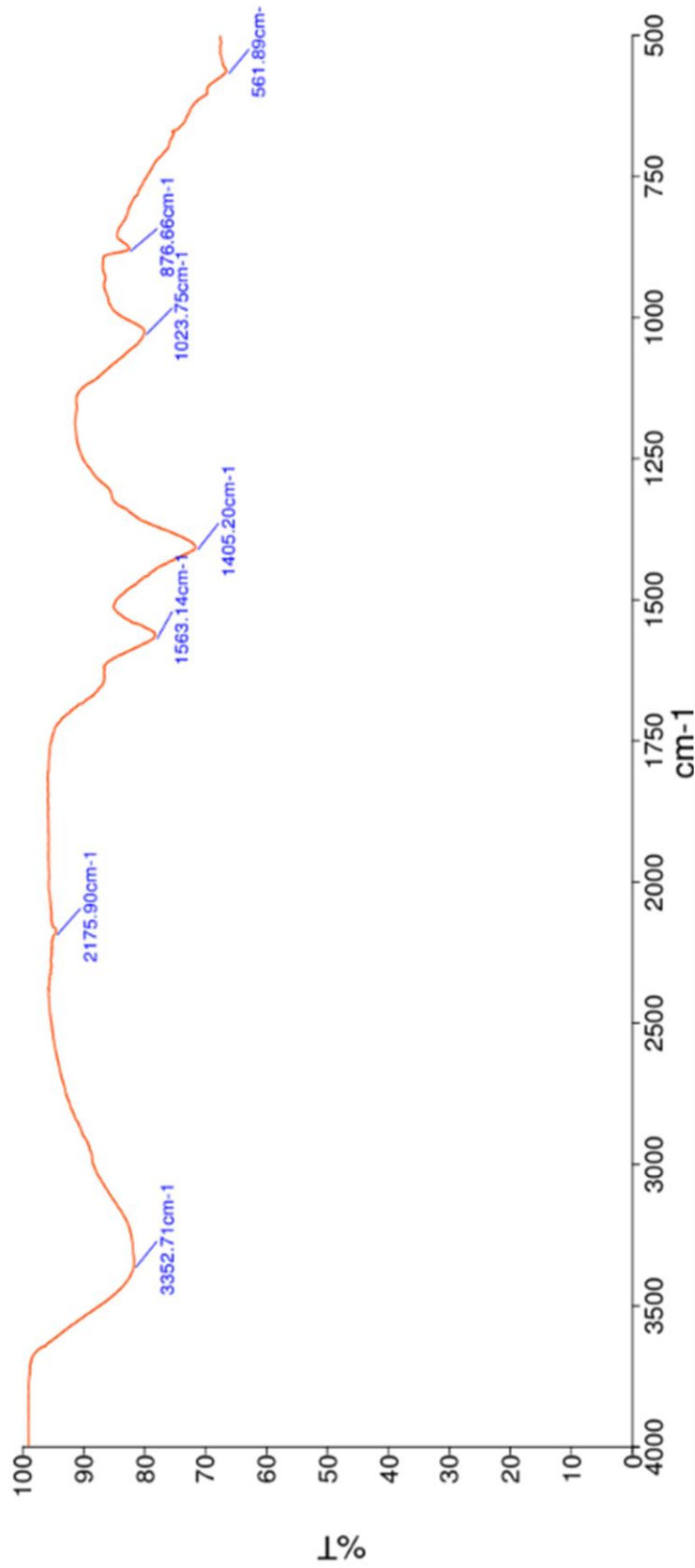
Leyenda Figura No.69: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Staphylococcus* sp. P.5.2C con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.70: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A réplica 1 con medio de cultivo comercial



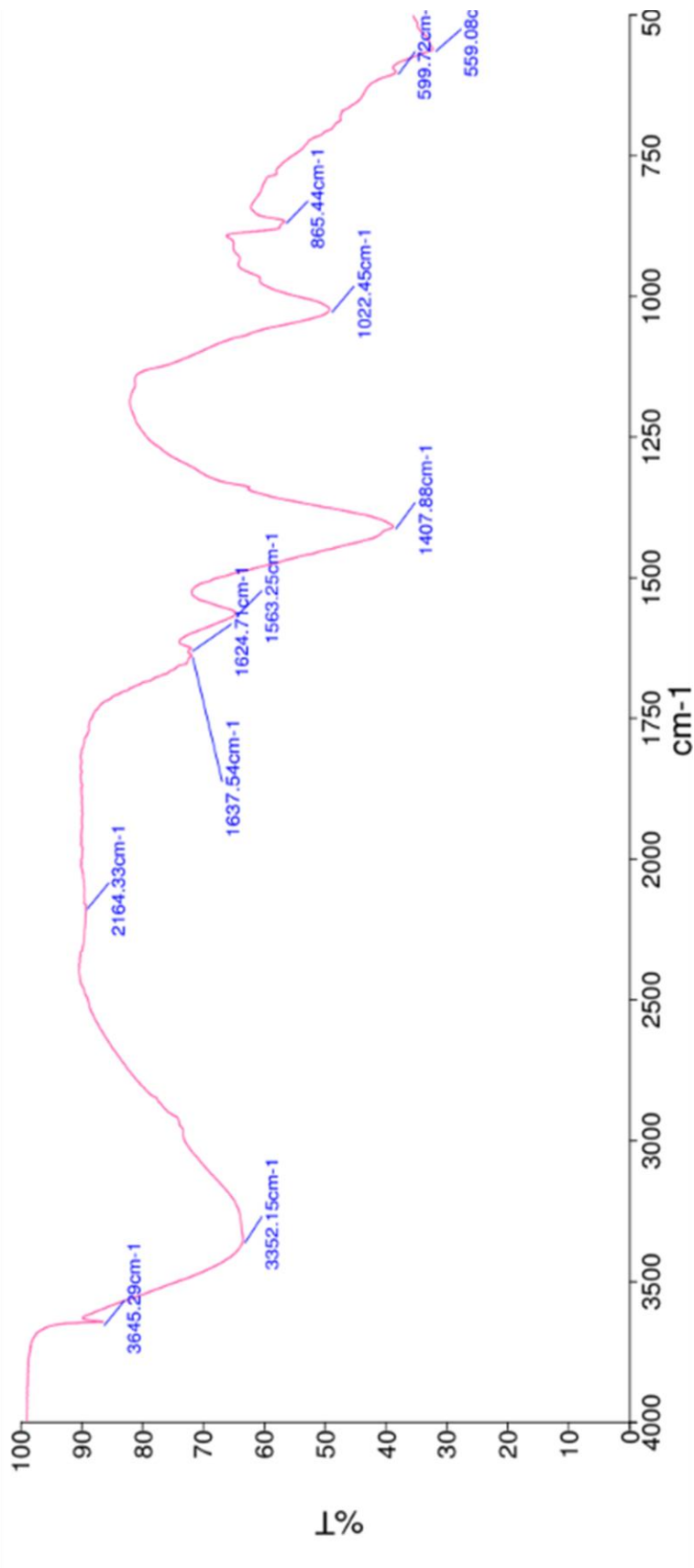
Leyenda Figura No.70: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.3A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.71: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* s sp. P.5.3A réplica 2 con medio de cultivo comercial



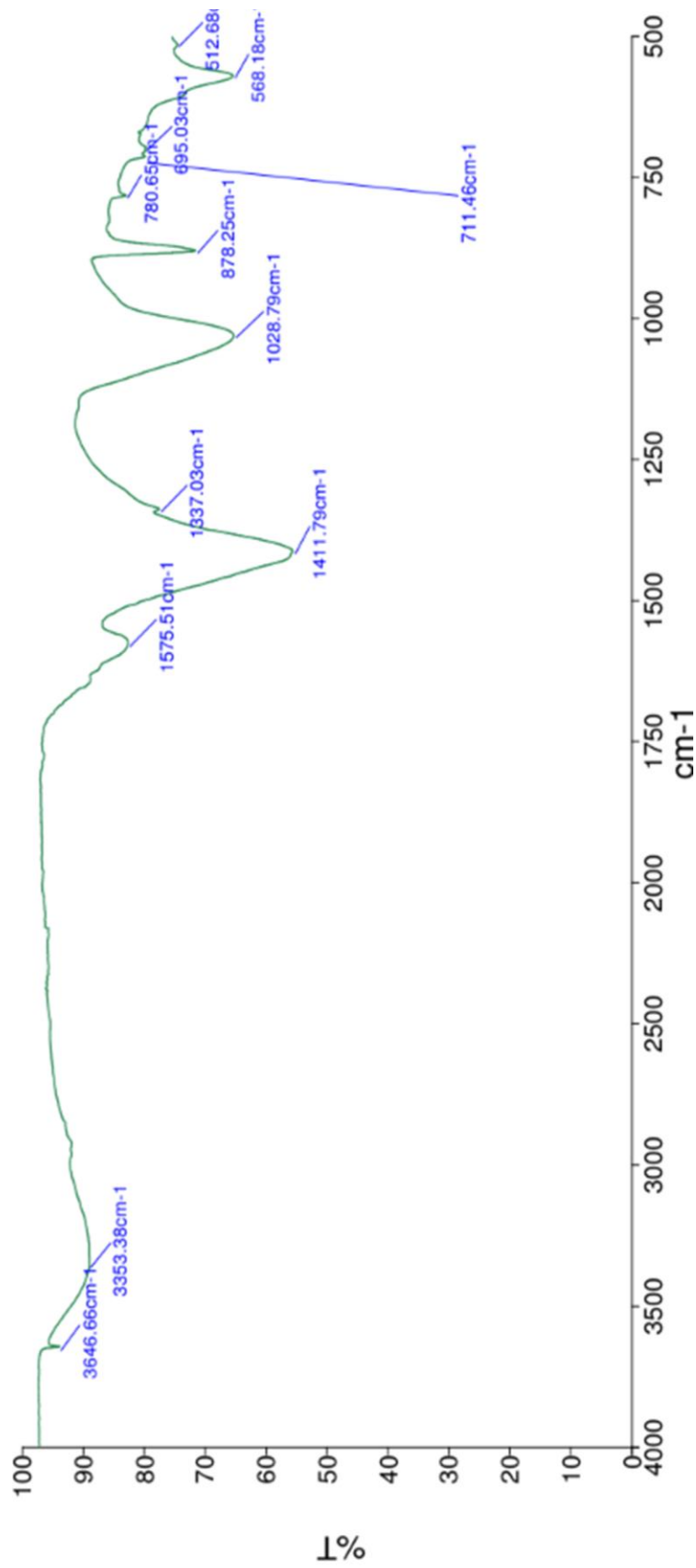
Leyenda Figura No.71: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.3A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.72: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A réplica 3 con medio de cultivo comercial



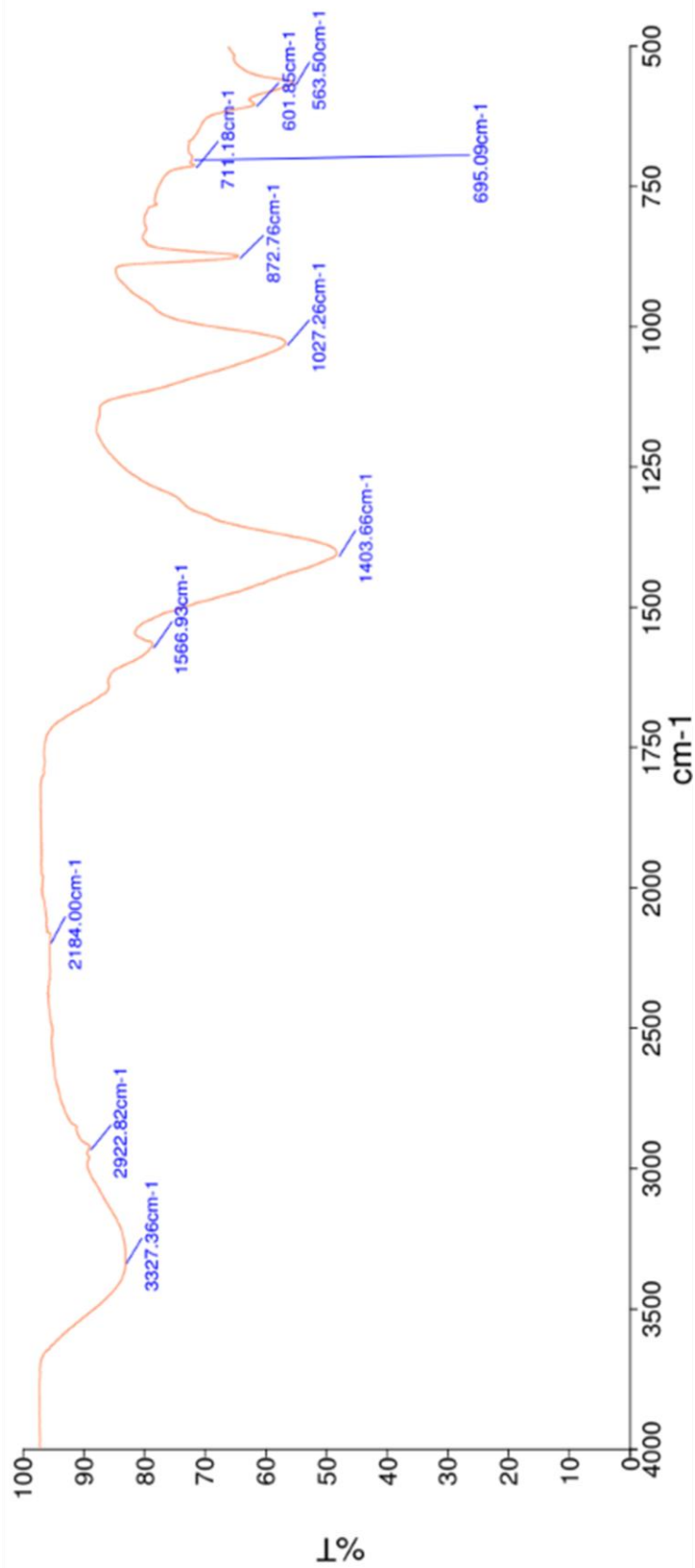
Leyenda Figura No.72: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando *Lysinibacillus* sp. P.5.3A con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.73: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 1 con medio de cultivo comercial



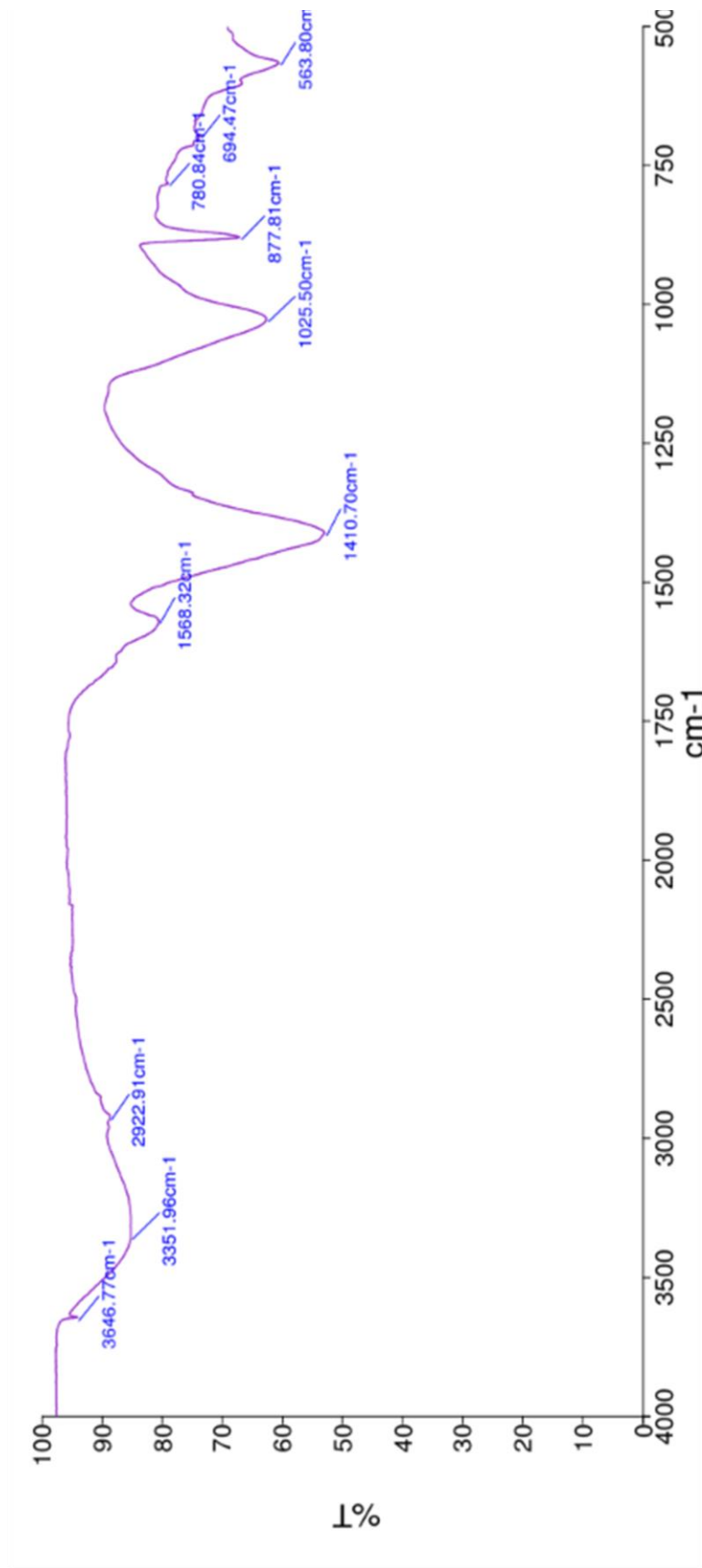
Leyenda Figura No.73: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando la muestra bacteriana P.5.3B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.74: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 2 con medio de cultivo comercial



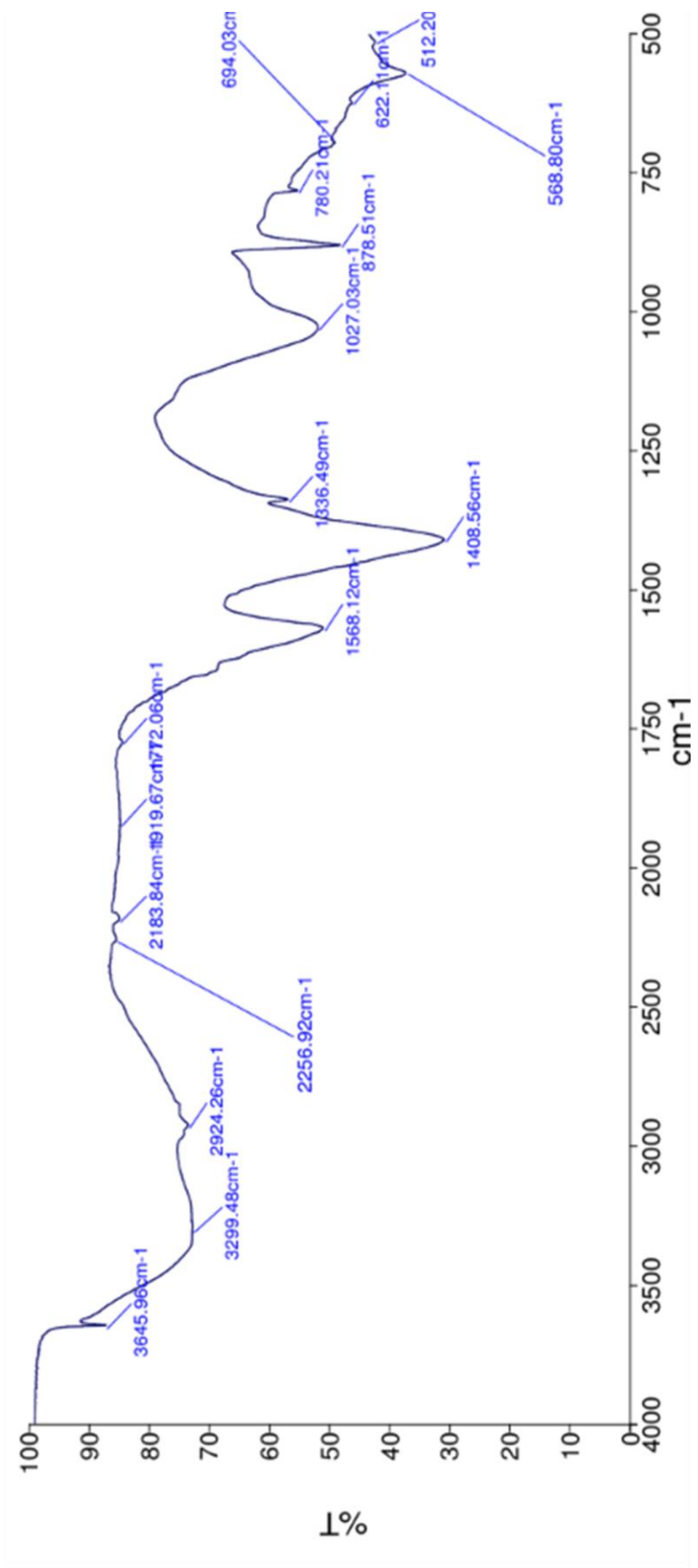
Leyenda Figura No.74: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando la muestra bacteriana. P.5.3B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.75: Espectro IR de precipitado extraído de la muestra bacteriana. P.5.3B réplica 3 con medio de cultivo comercial



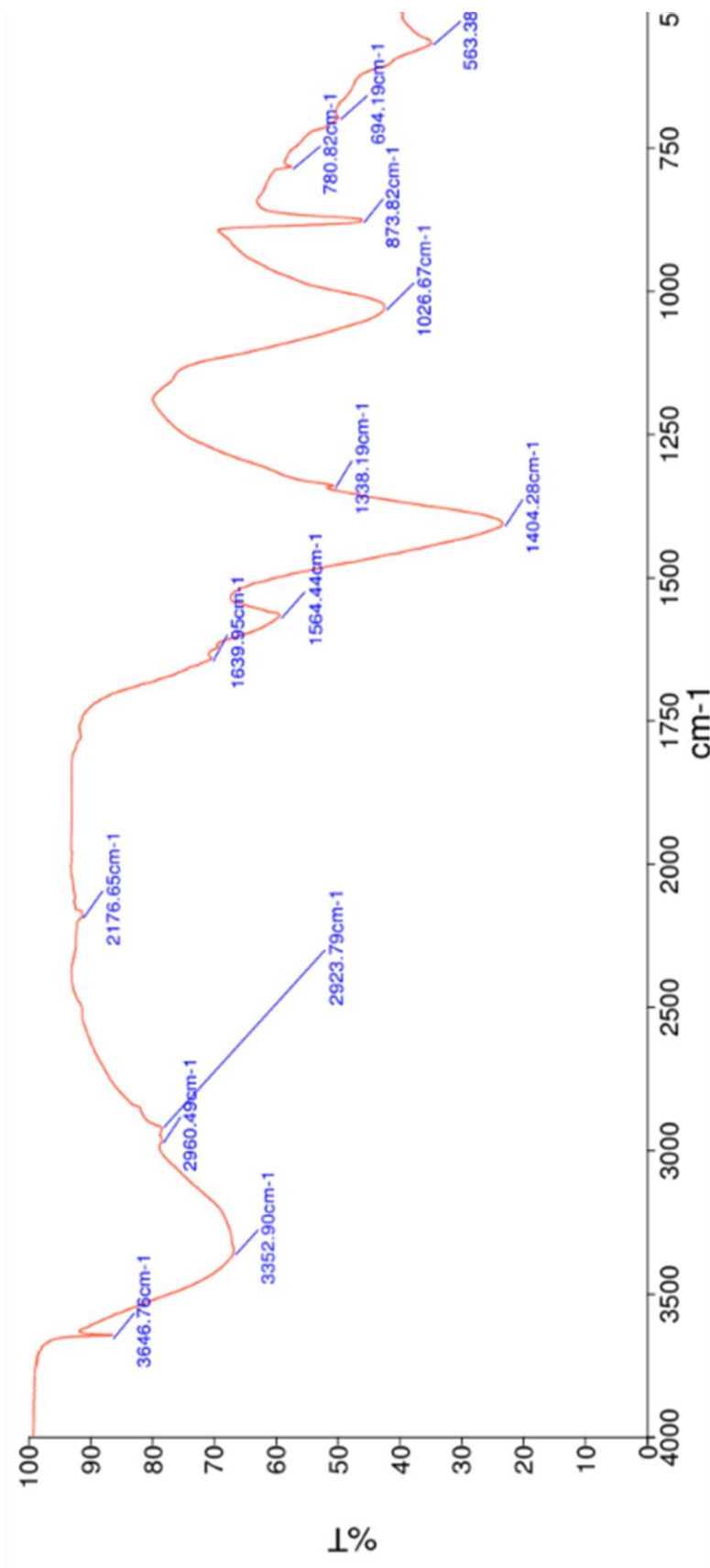
Leyenda Figura No.75: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando la muestra bacteriana. P.5.3B con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.76: Espectro IR de precipitado extraído de muestra Bacillales. P.6.1 réplica 1 con medio de cultivo comercial



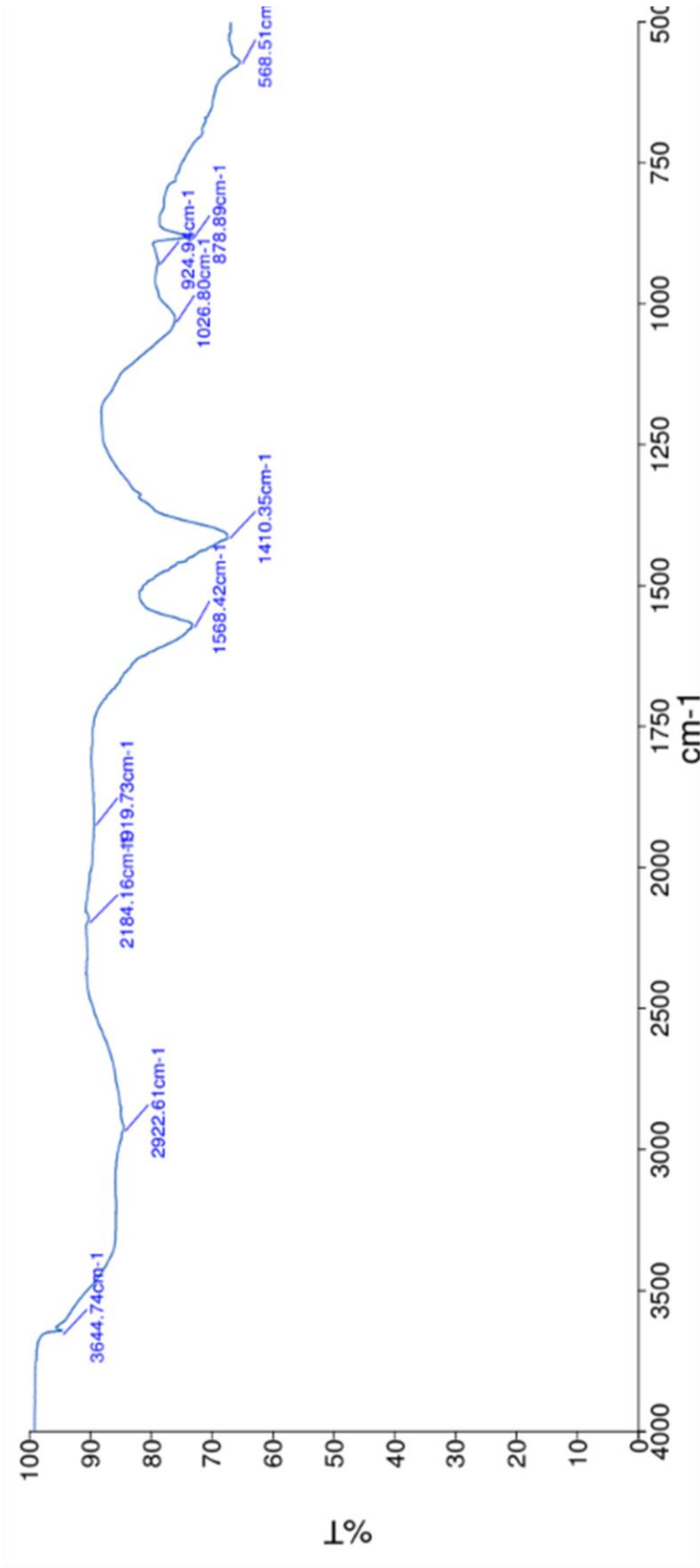
Leyenda Figura No.76: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 1 utilizando Bacillales. P.6.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No. 77: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales sp. P.6.1 réplica 2 con medio de cultivo comercial



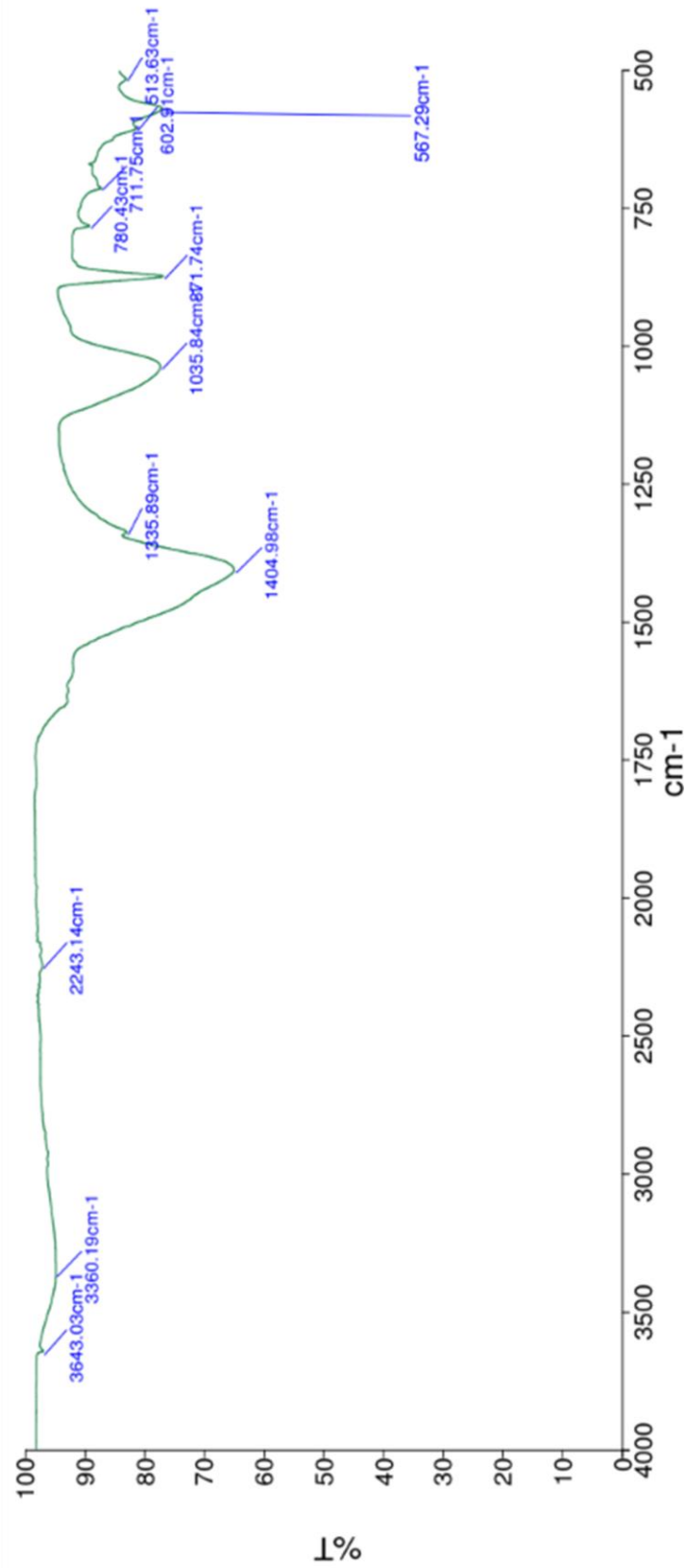
Leyenda Figura No.77: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 2 utilizando Bacillales P.6.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.78: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de Bacillales P.6.1 réplica 3 con medio de cultivo comercial



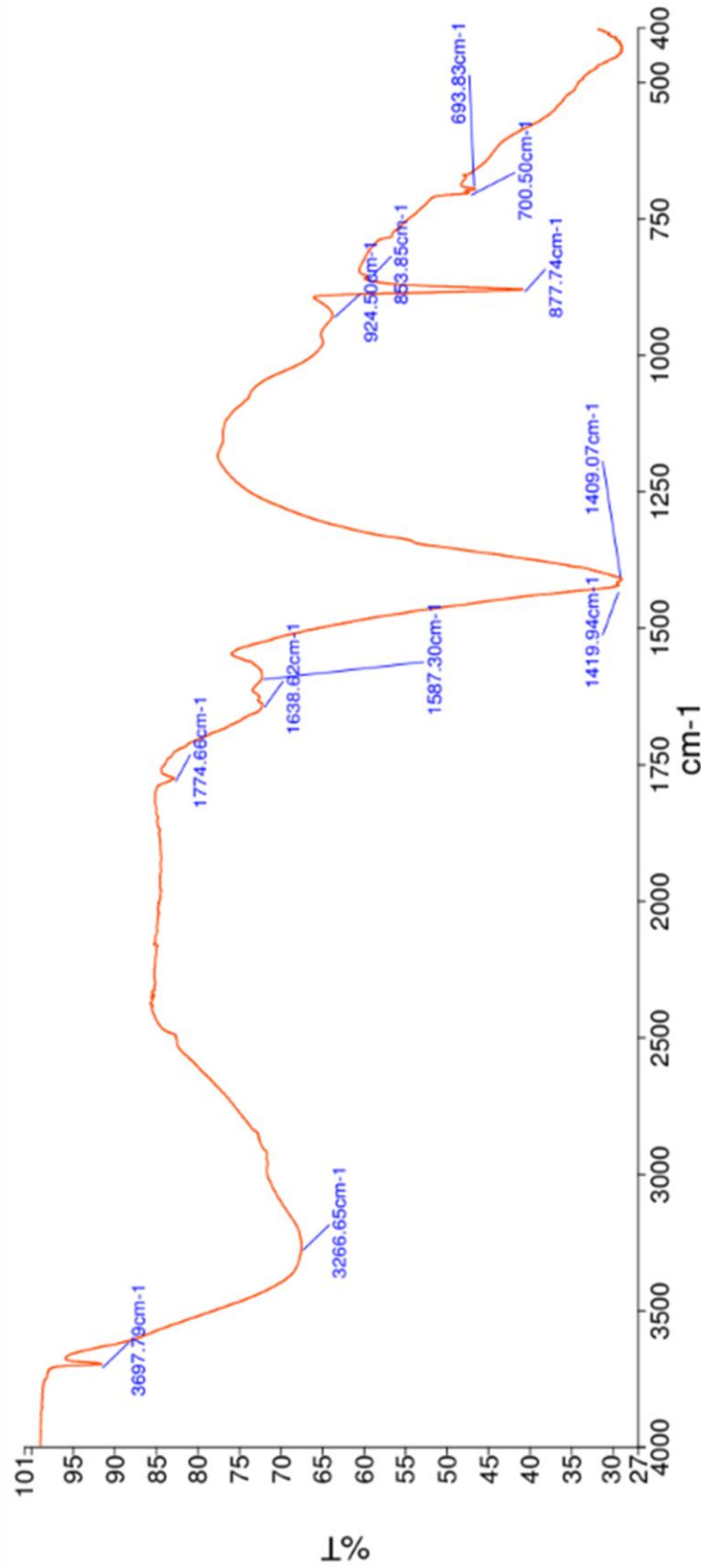
Leyenda Figura No.78: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído para la réplica 3 utilizando Bacillales P.6.1 con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.79: Espectro IR de precipitado extraído del control negativo con medio de cultivo comercial



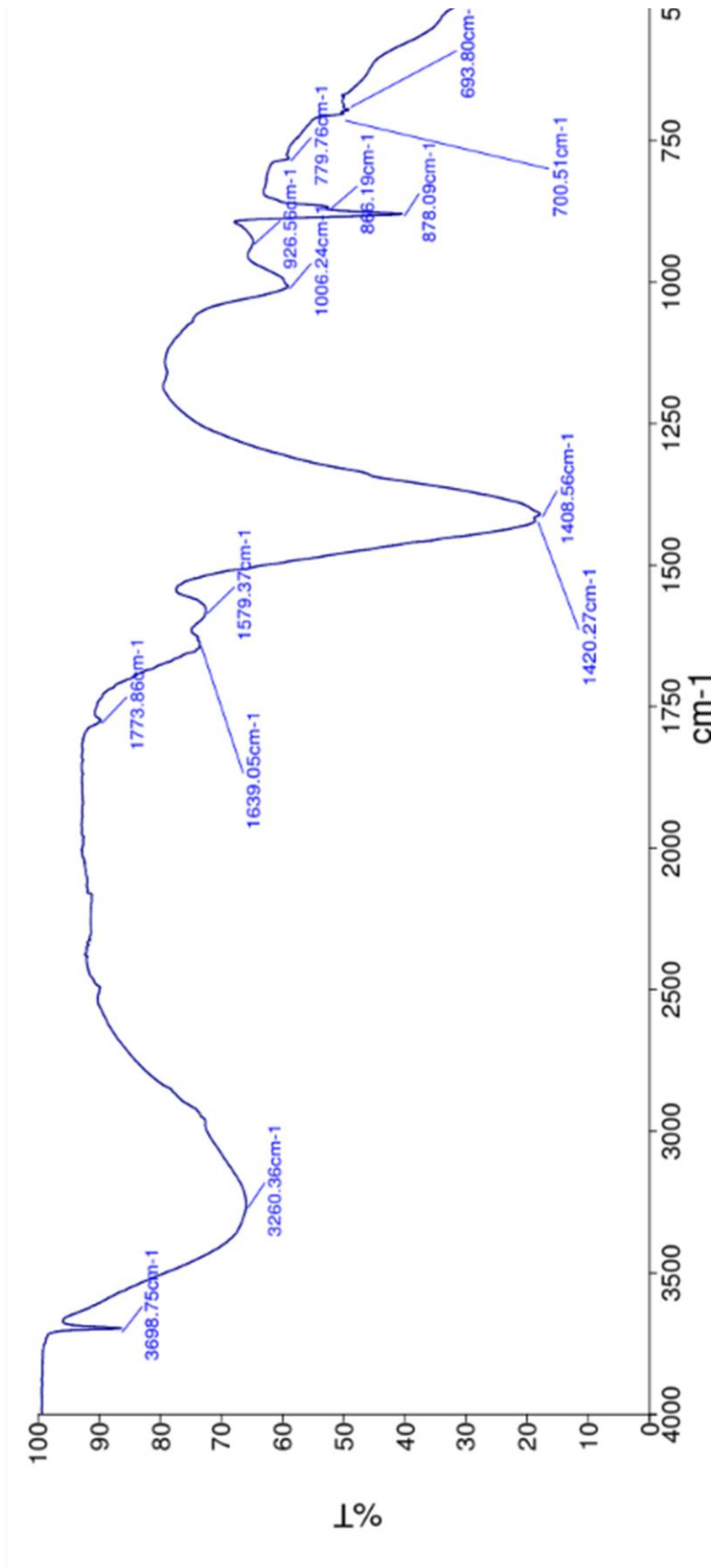
Leyenda Figura No.79: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído del control negativo con un medio de cultivo comercial para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.80: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con medio de cultivo a base de desechos industriales



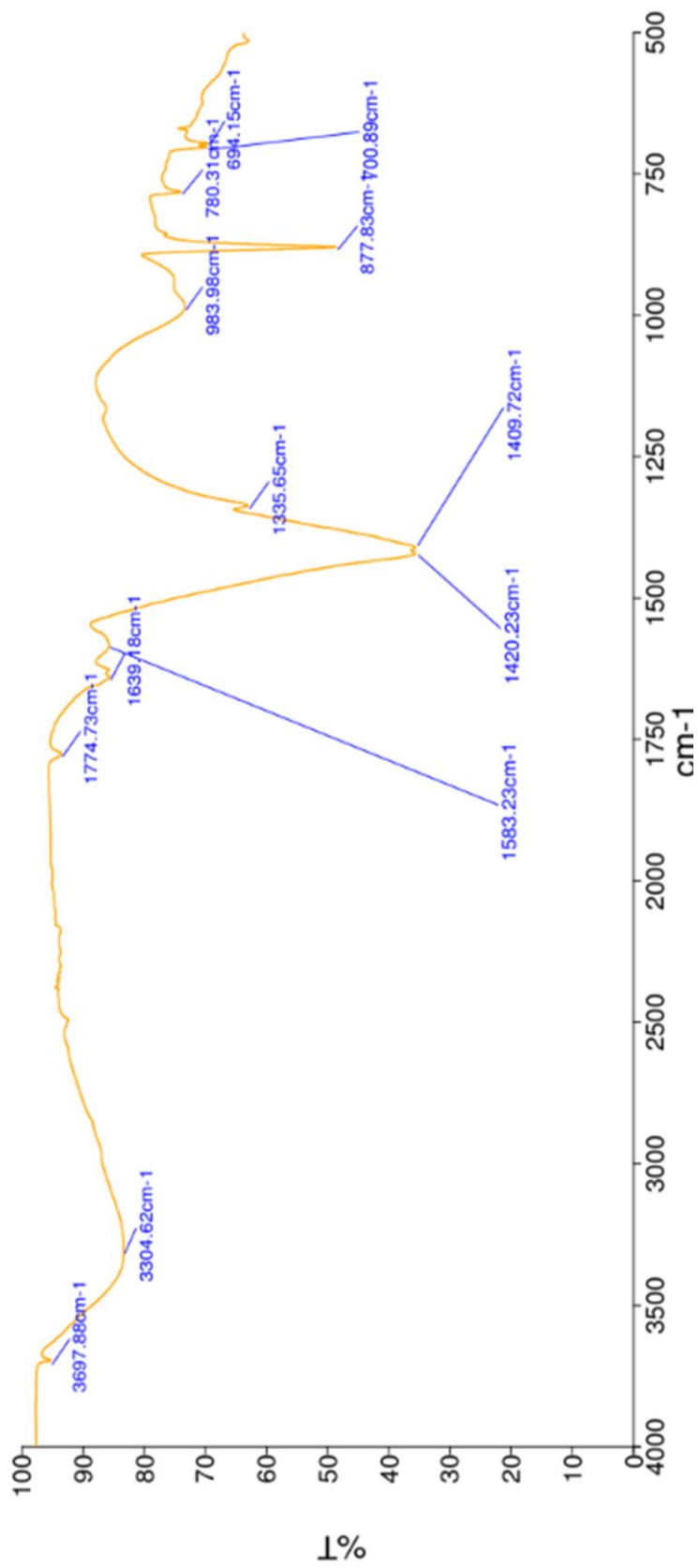
Leyenda Figura No.80: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P.1.1 con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.81: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp.. P. 2.2A con medio de cultivo a base de desechos industriales



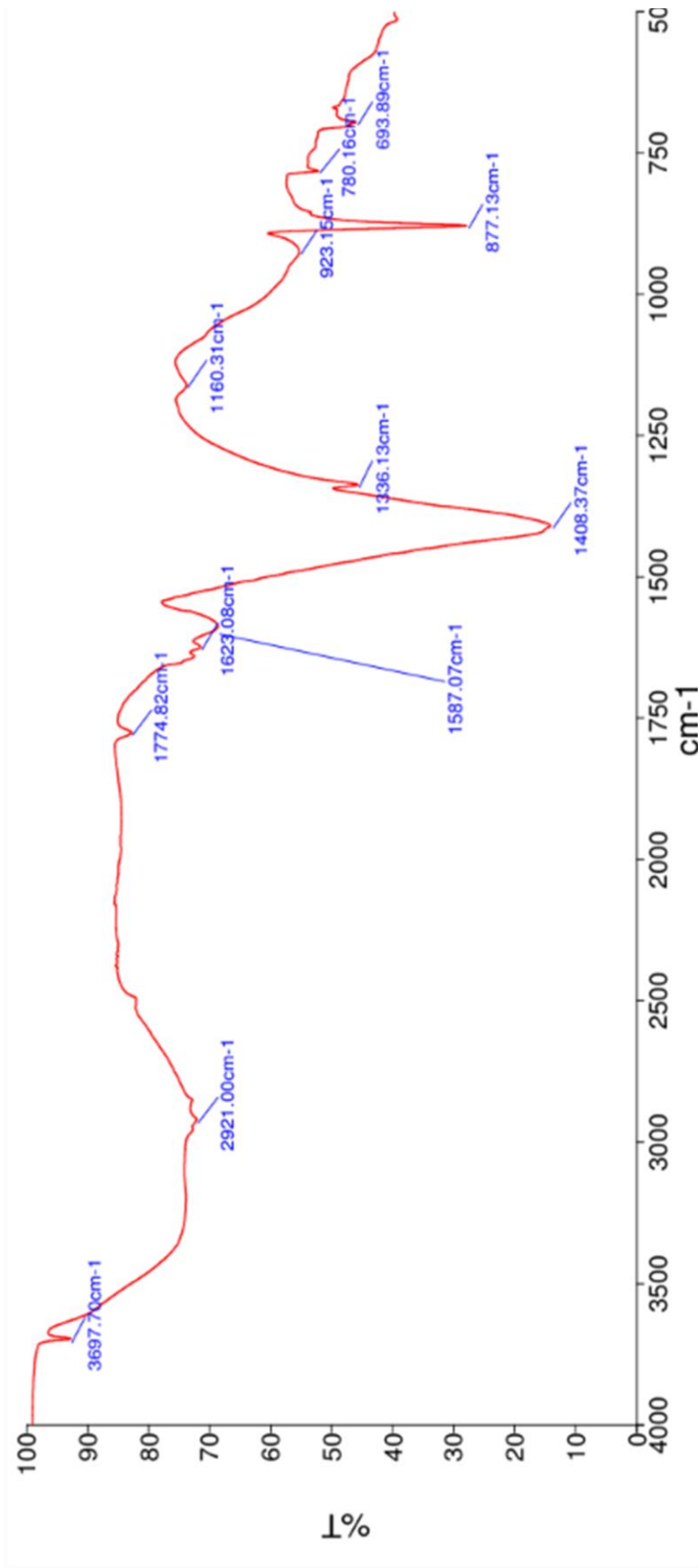
Leyenda Figura No.81: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 2.2A con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.82: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana P.2.2B con medio de cultivo a base de desechos industriales



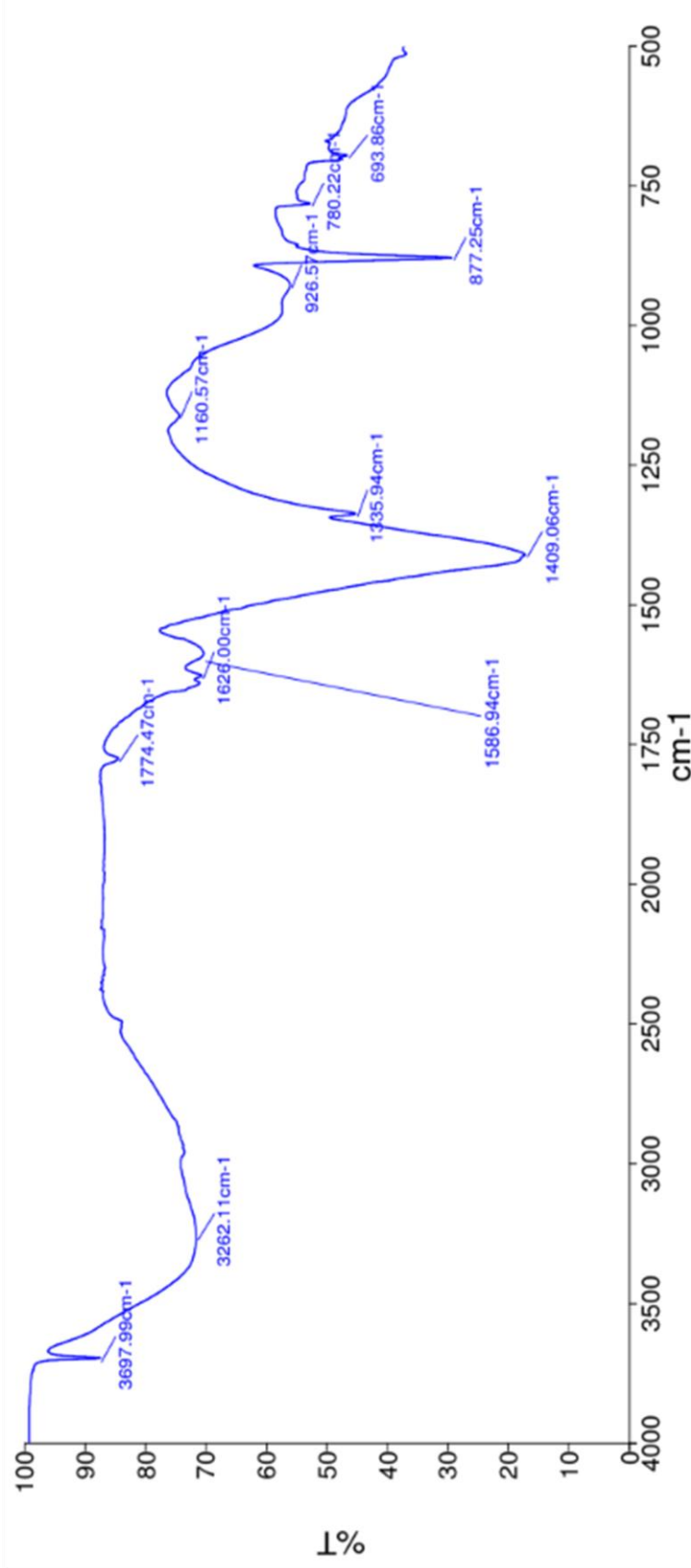
Leyenda Figura No.82: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando la muestra bacteriana. P.2.2B con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.83: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp., P. 4.1A con medio de cultivo a base de desechos industriales



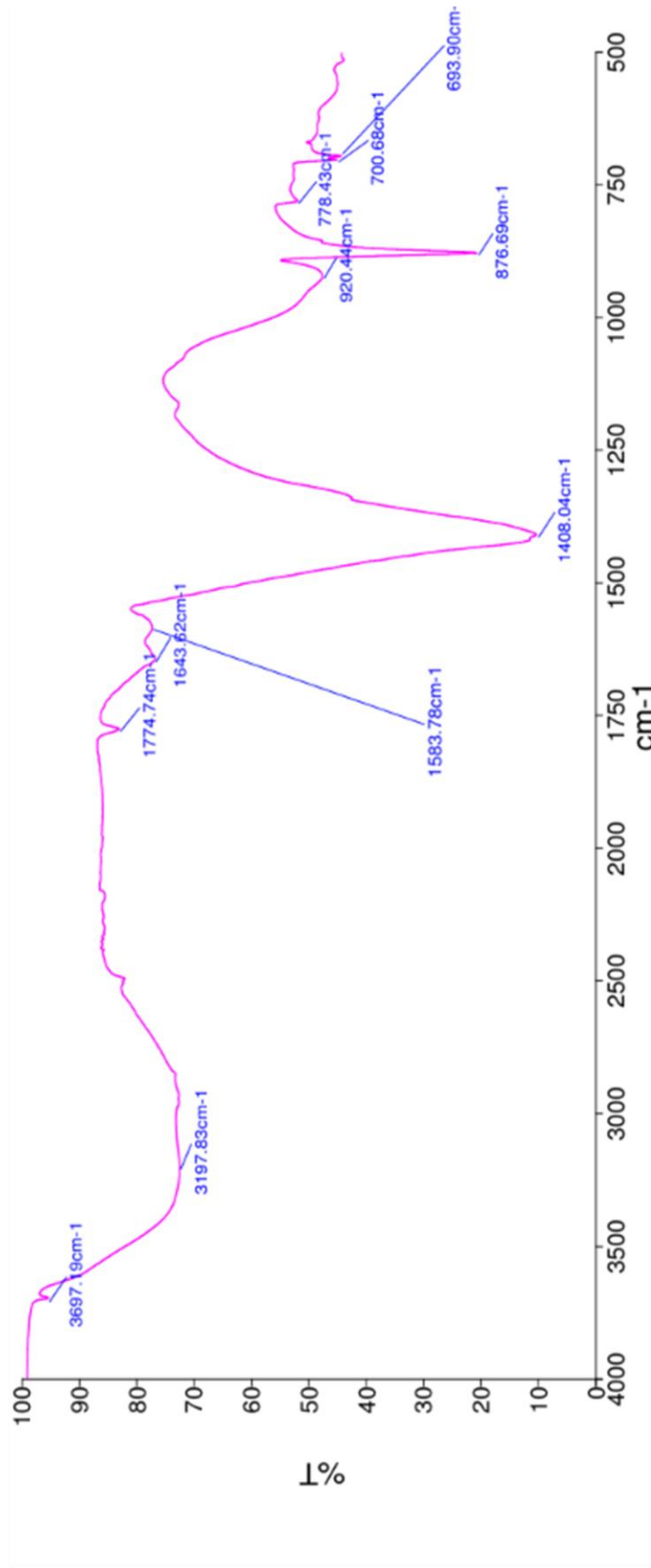
Leyenda Figura No.83: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 4.1A con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.84: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp., P. 4.1B con medio de cultivo a base de desechos industriales



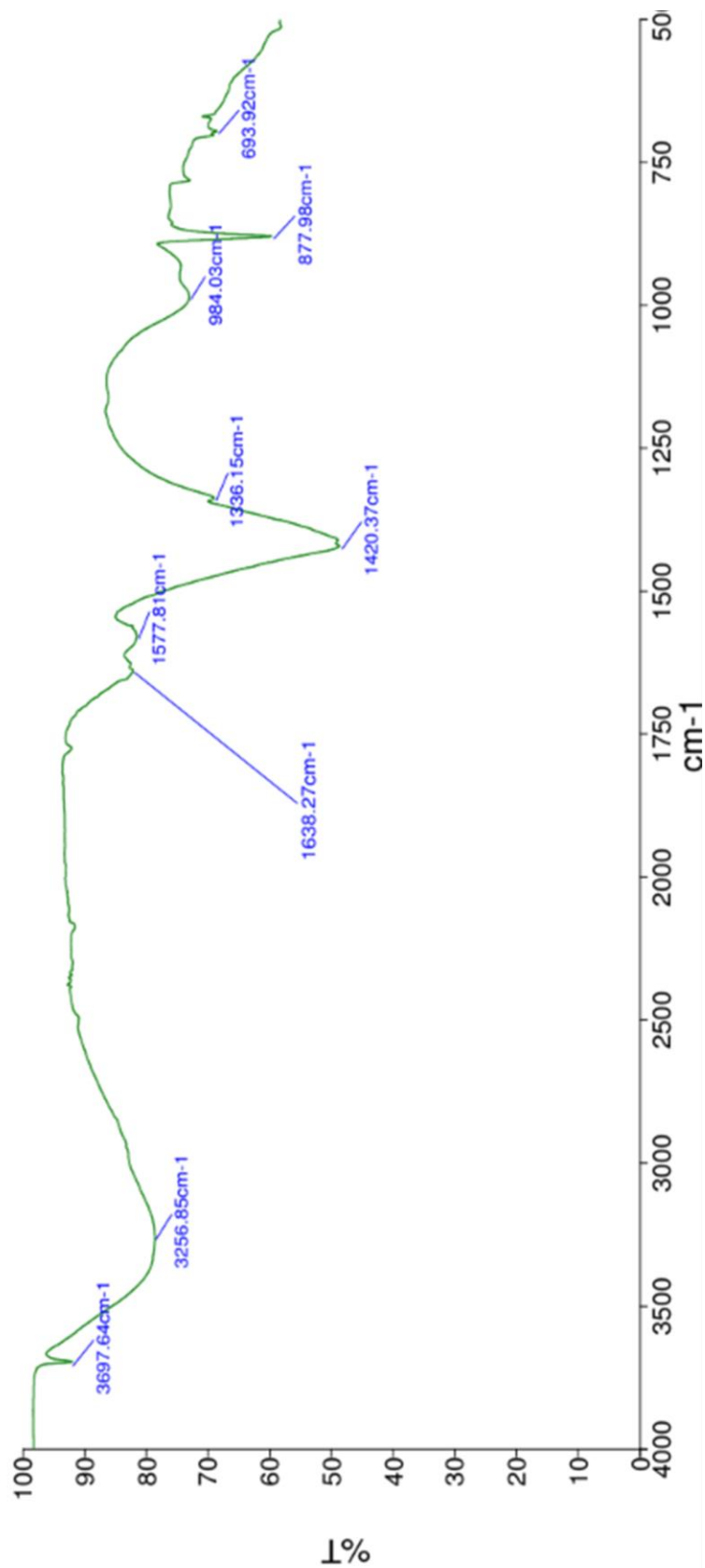
Leyenda Figura No.84: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 4.1B con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.85: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp., P. 5.2A con medio de cultivo a base de desechos industriales



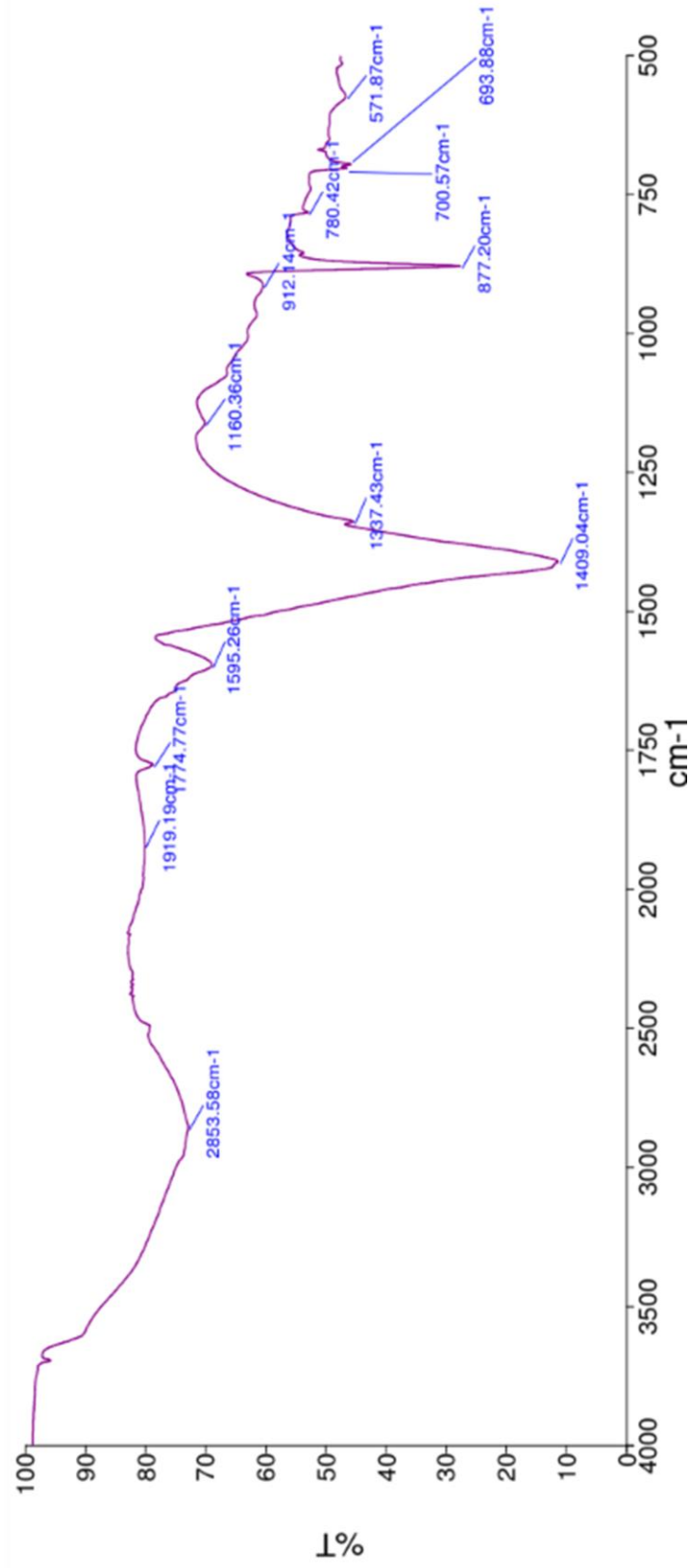
Leyenda Figura No.85: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 5.2A con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.86: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp., P. 5.2B con medio de cultivo a base de desechos industriales



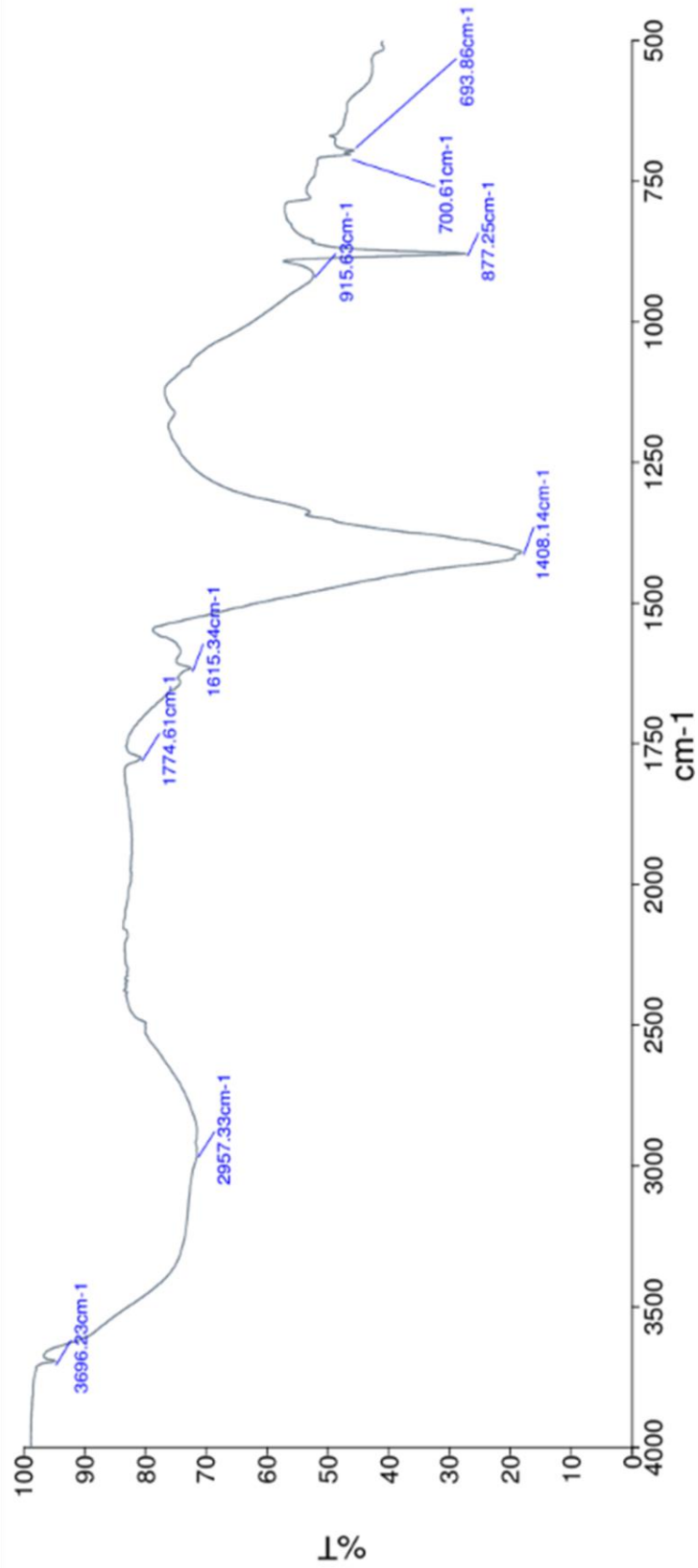
Leyenda Figura No.86: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 5.2B con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No. 87: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Staphylococcus* sp., P. 5.2C con medio de cultivo a base de desechos industriales



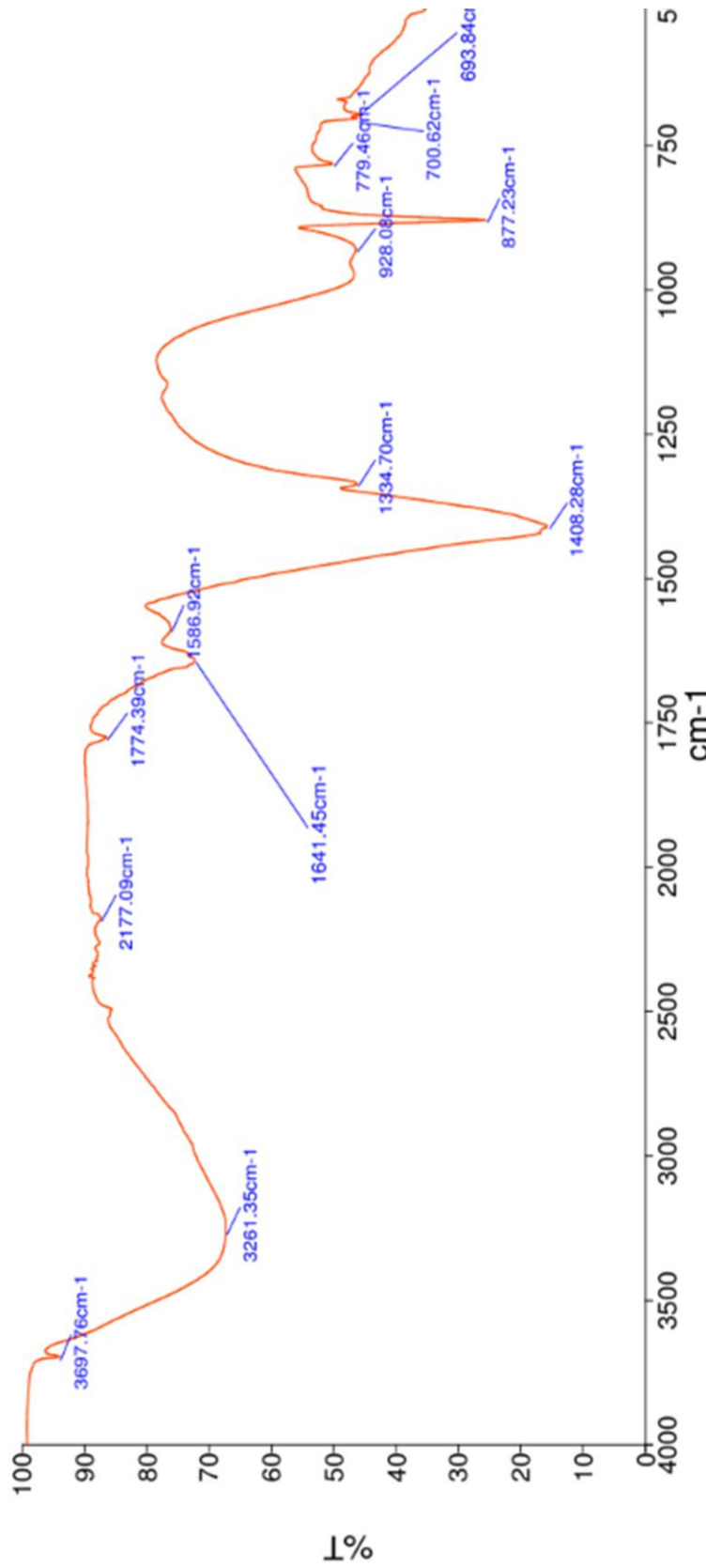
Leyenda Figura No.87: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Staphylococcus* sp. P. 5.2C con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.88: Espectro IR de precipitado extraído de muestra de *Lysinibacillus* sp.. P. 5.3A con medio de cultivo a base de desechos industriales



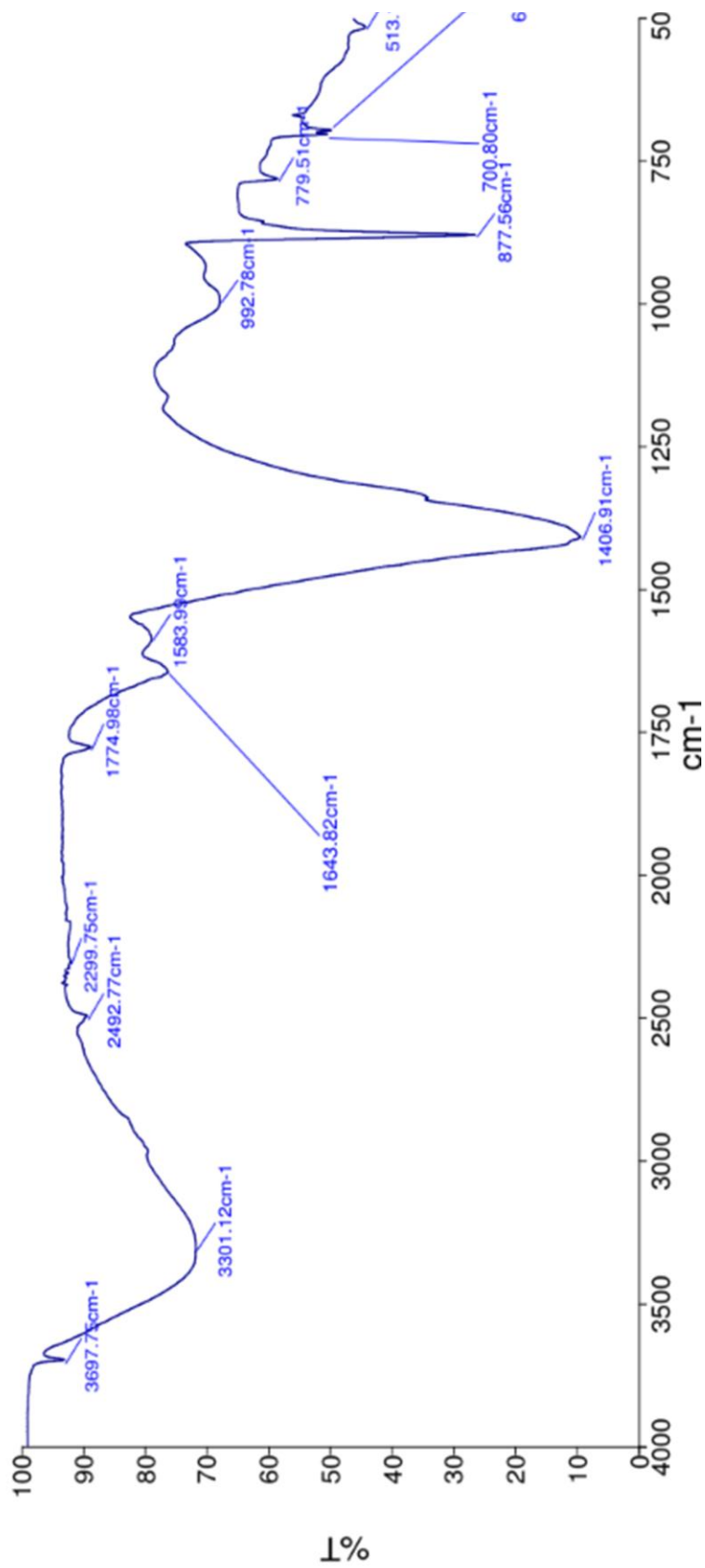
Leyenda Figura No.88: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando *Lysinibacillus* sp. P. 5.3A con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No. 89: Espectro IR de precipitado extraído de muestra bacteriana. P. 5.3B con medio de cultivo a base de desechos industriales



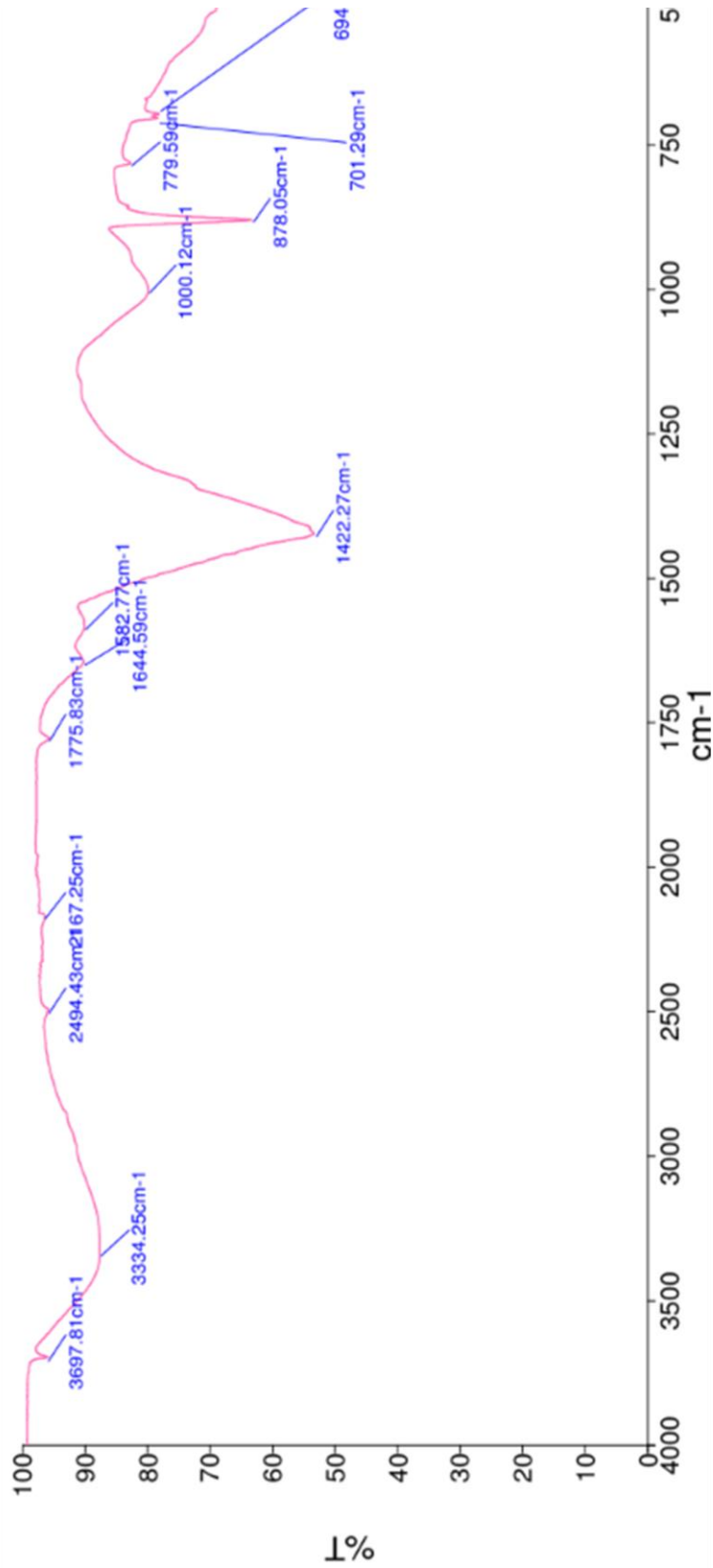
Leyenda Figura No.89: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando la muestra bacteriana 5.3B con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.90: Espectro IR de precipitado extraído de muestra Bacillales. P. 6.1 con medio de cultivo a base de desechos industriales



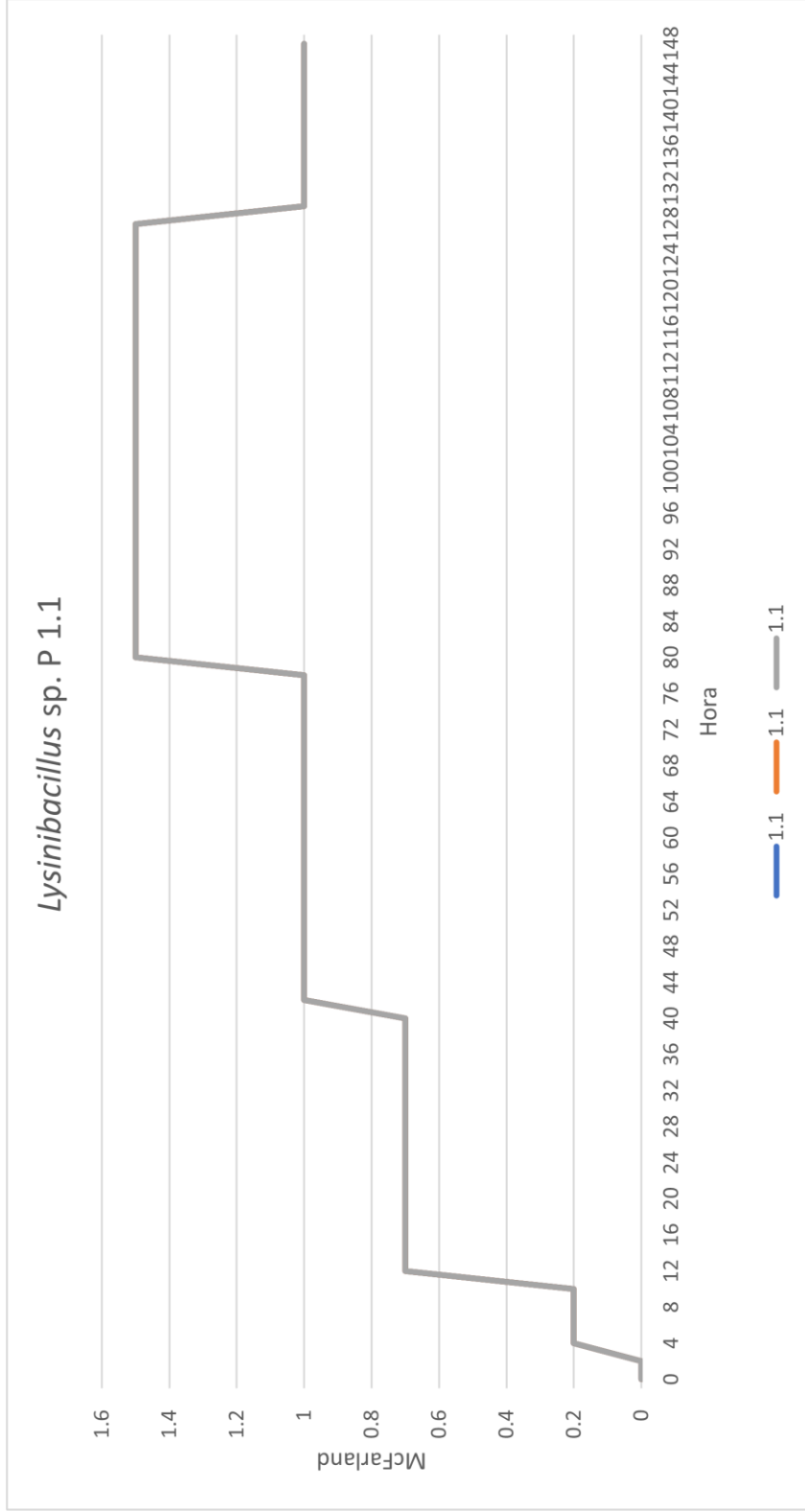
Leyenda Figura No.90: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído utilizando Bacillales. P. 6.1 con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.91: Espectro IR de precipitado extraído de control negativo con medio de cultivo a base de desechos industriales



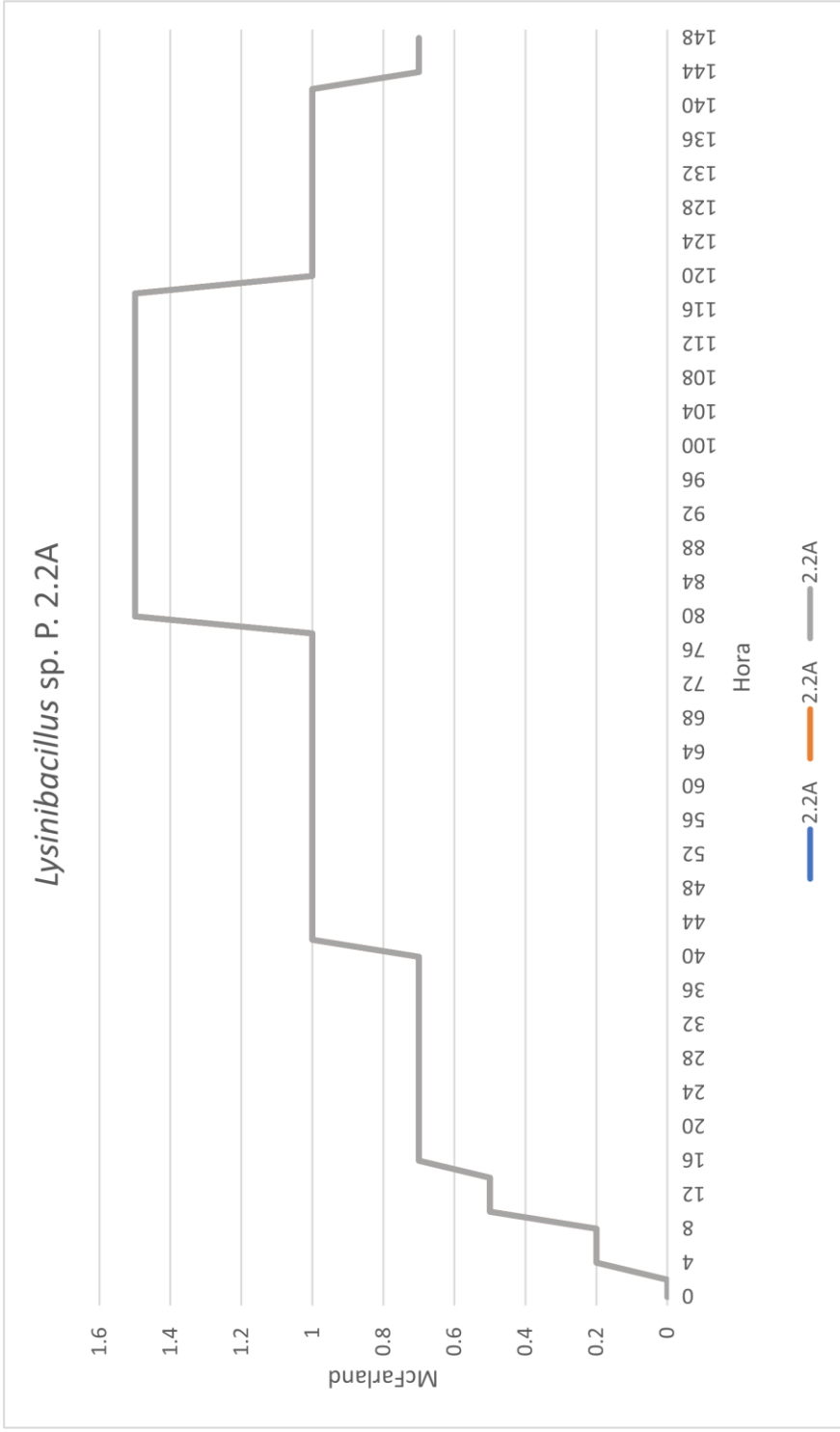
Leyenda Figura No.91: en esta imagen se muestra el espectro IR del precipitado extraído del control negativo con un medio de cultivo a base de desechos industriales para la determinación de cepas productoras de carbonato de calcio.

Figura No.92: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 en medio de cultivo a base de desechos industriales



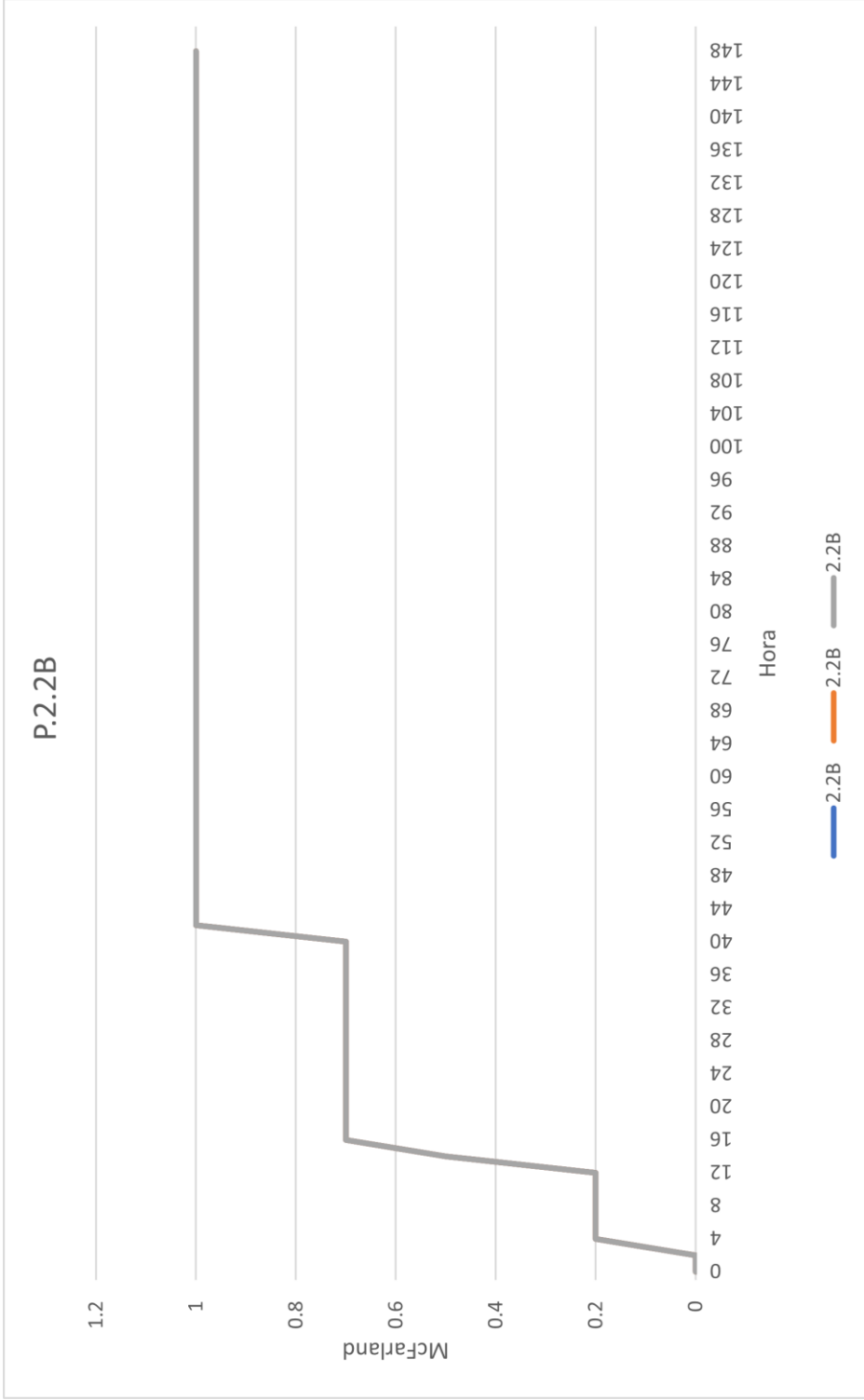
Leyenda Figura No. 92: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.93: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A en medio de cultivo a base de desechos industriales



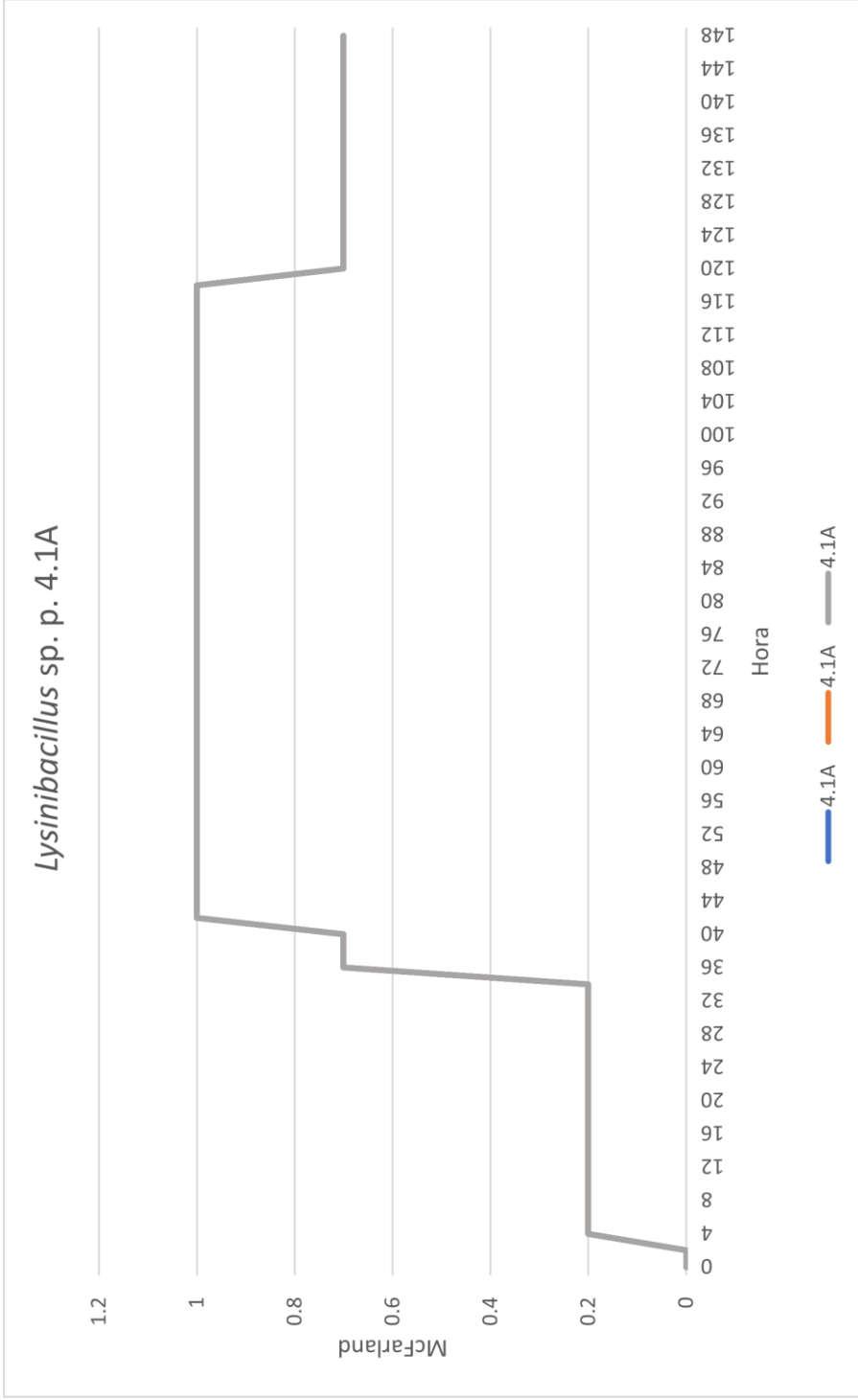
Leyenda Figura No. 93: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No. 94: Curva de crecimiento de la muestra bacteriana P.2.2B en medio de cultivo a base de desechos industriales



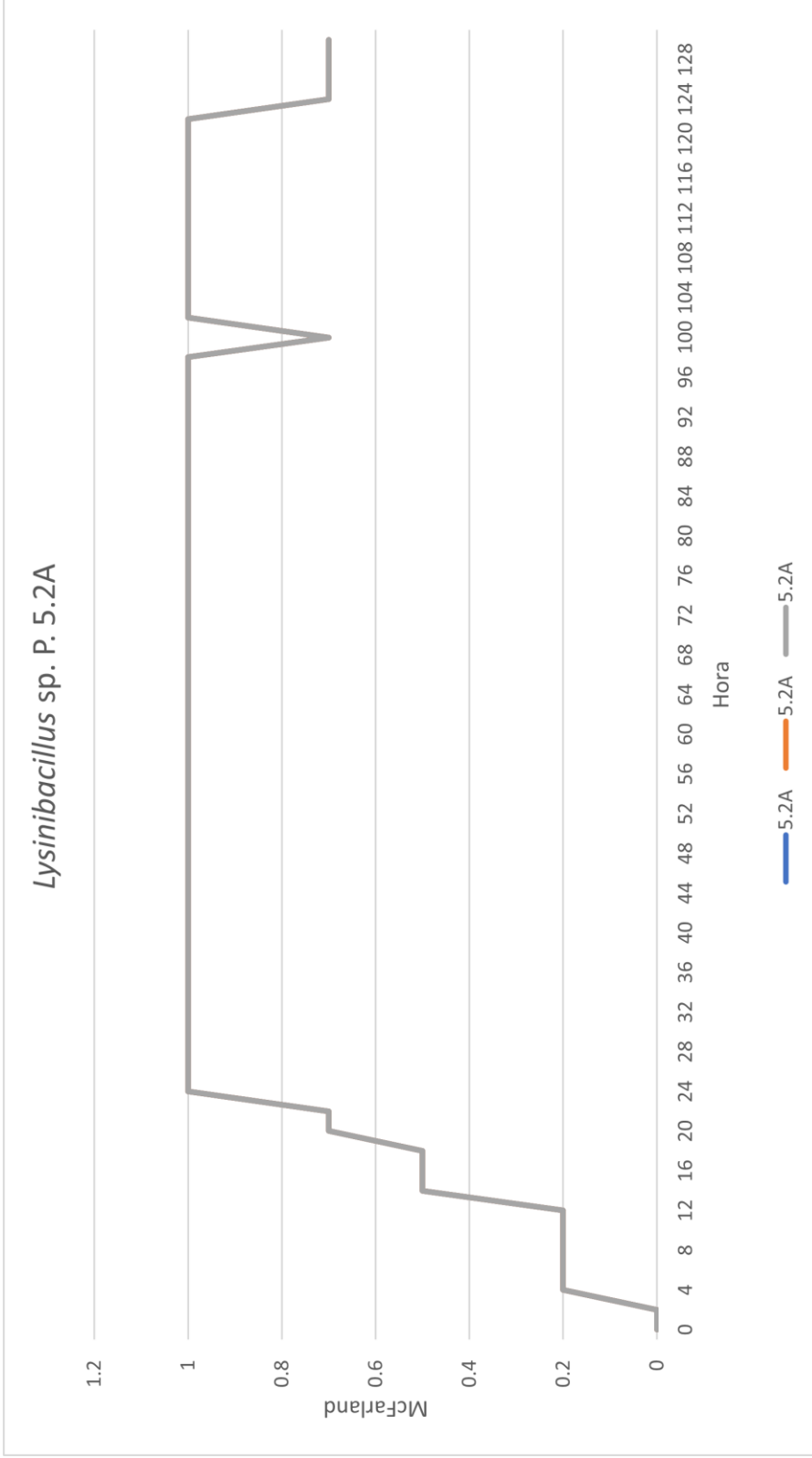
Leyenda Figura No. 94: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de la muestra bacteriana P.2.2B para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.95: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A en medio de cultivo a base de desechos industriales



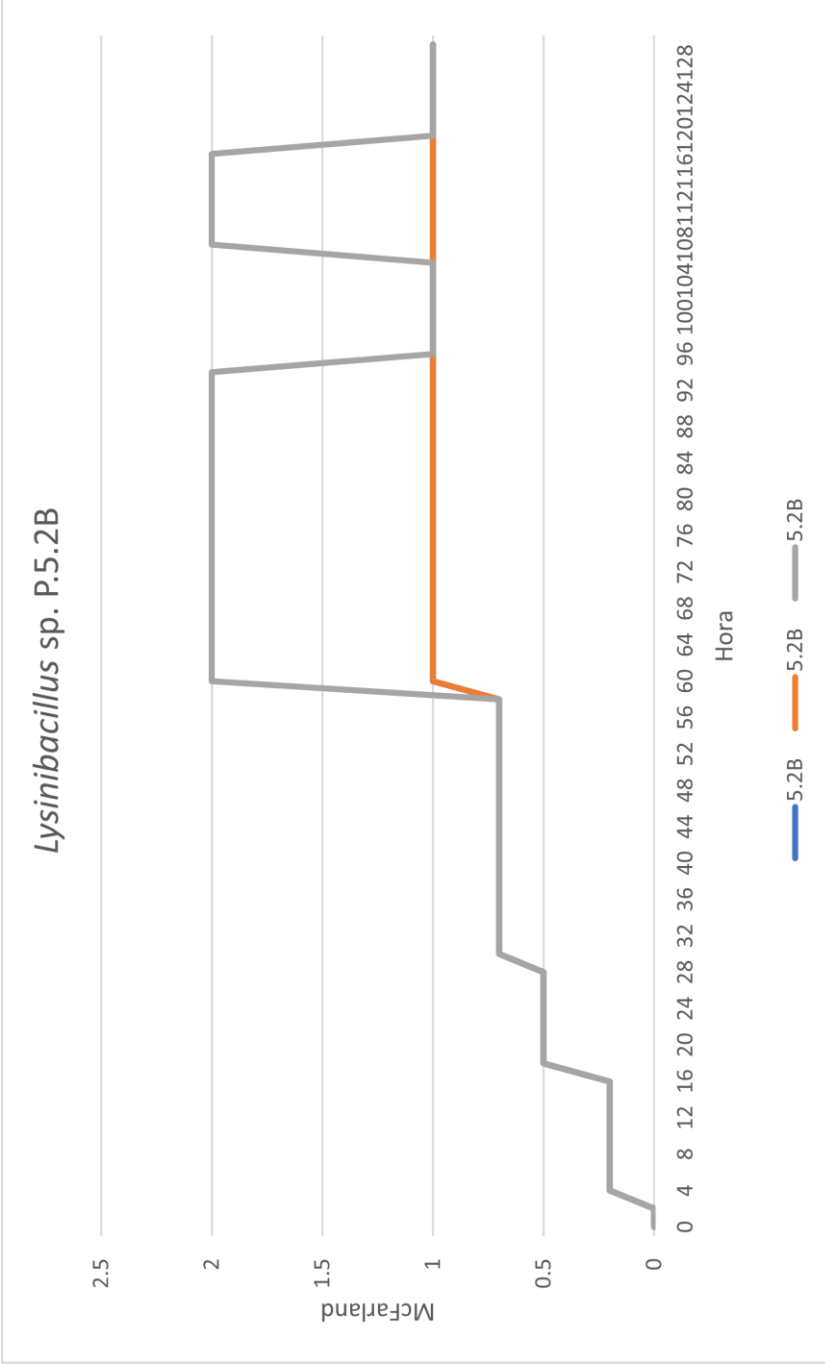
Leyenda Figura No.95: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.96: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A en medio de cultivo a base de desechos industriales



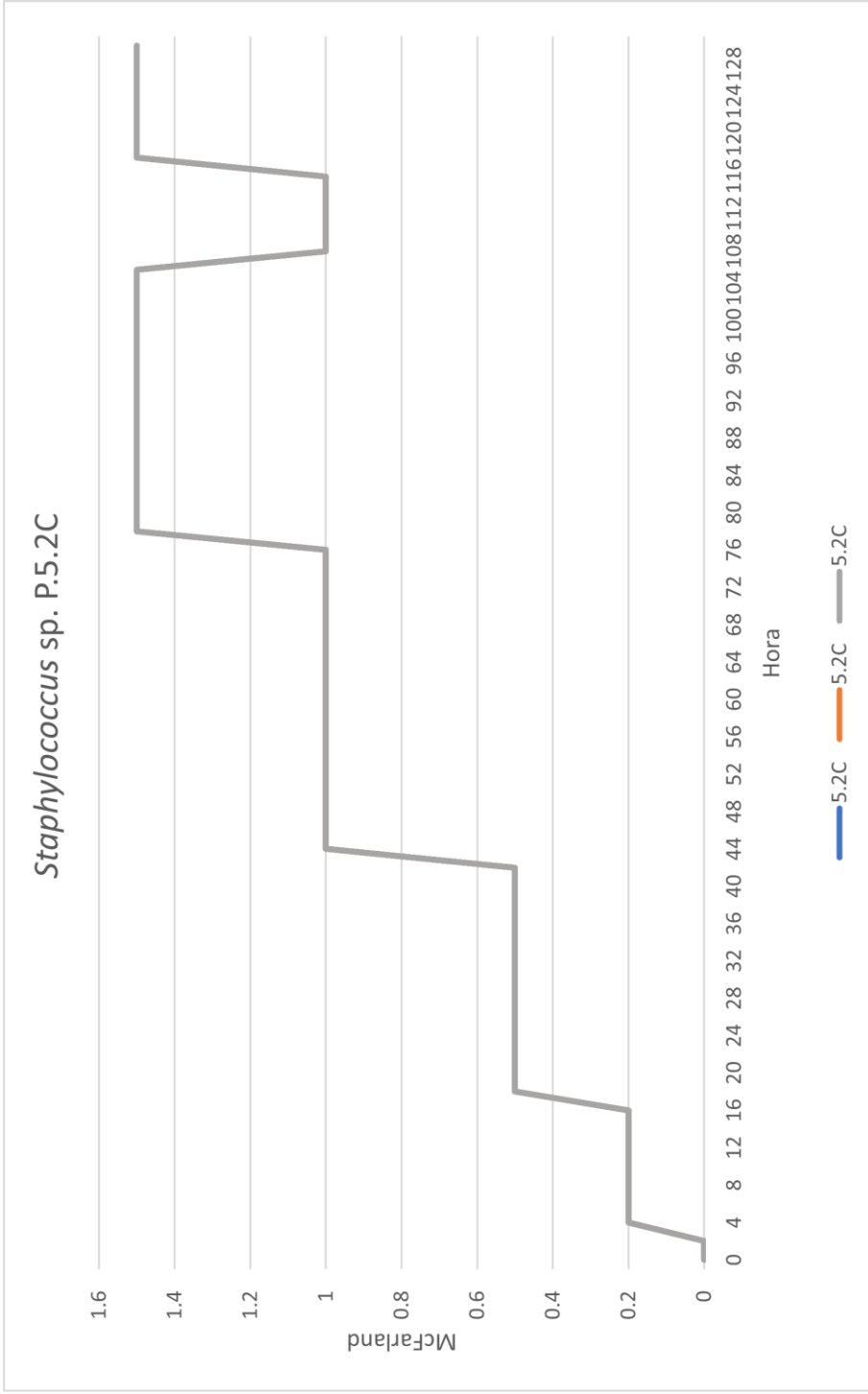
Leyenda Figura No. 97: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.97: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B en medio de cultivo a base de desechos industriales



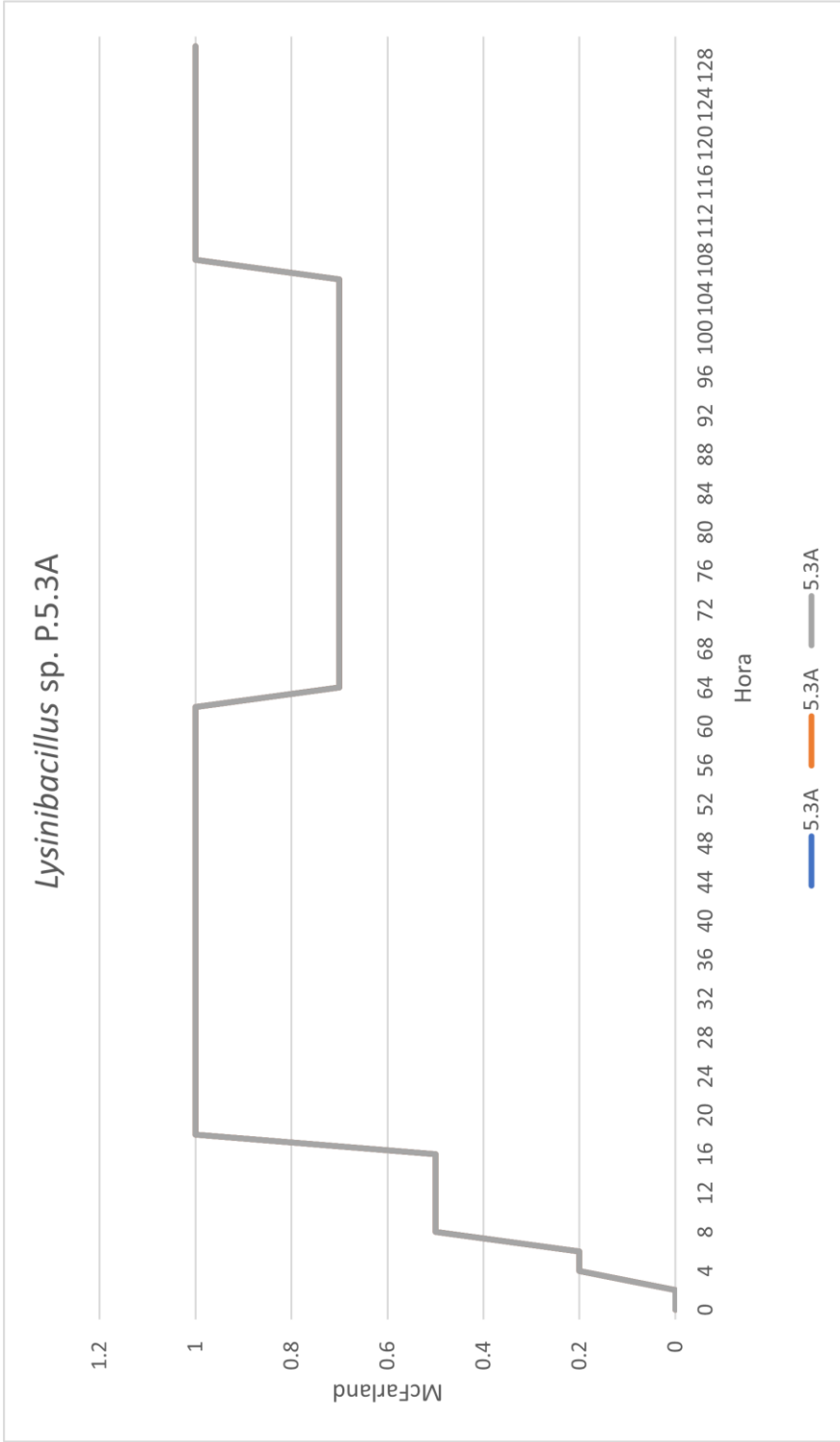
Leyenda Figura No. 98: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.98: Curva de crecimiento de *Staphylococcus sp. P.5.2C* en medio de cultivo a base de desechos industriales



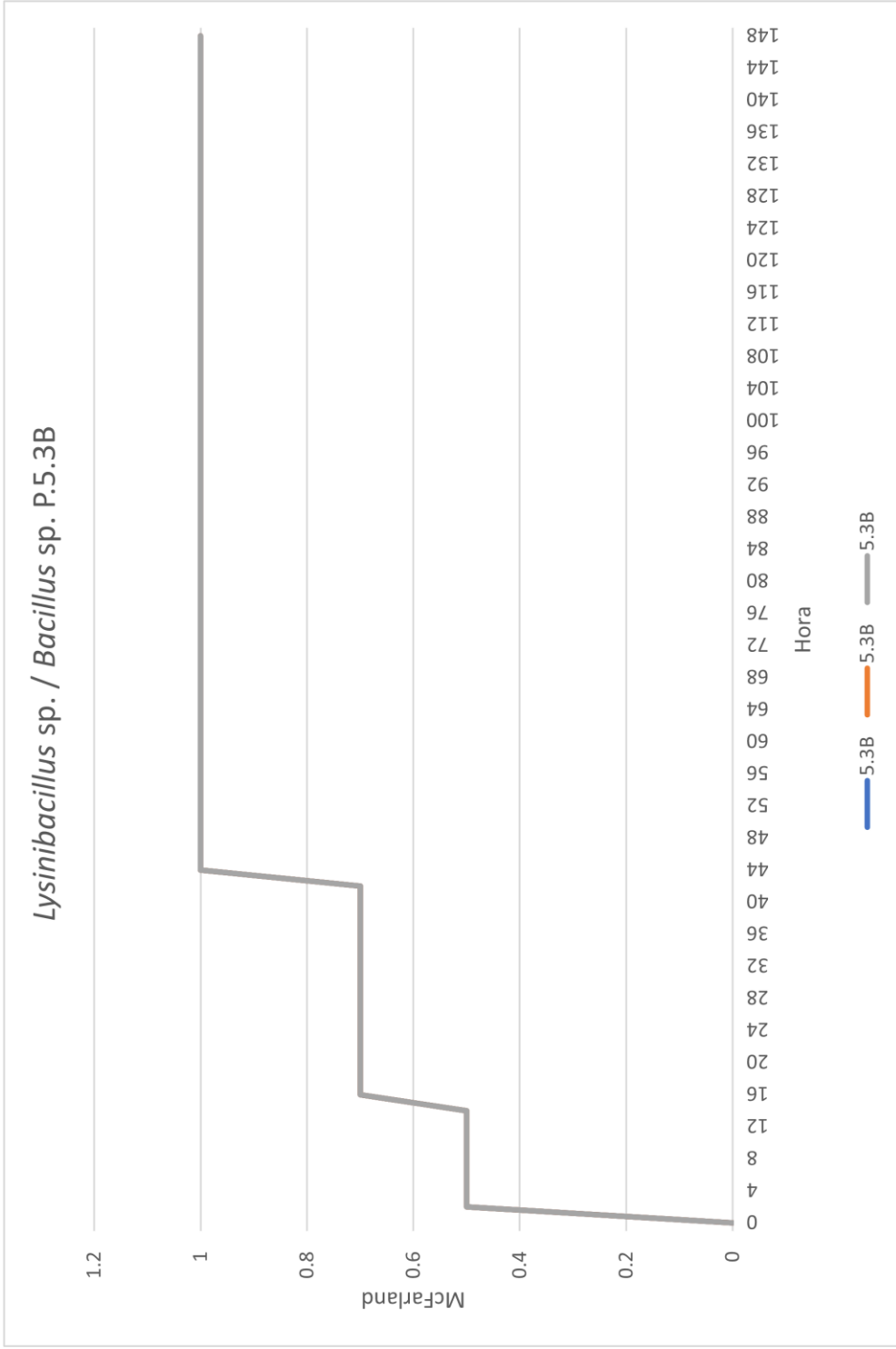
Leyenda Figura No. 99: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Staphylococcus sp. P.5.2C* para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.99: Curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A en medio de cultivo a base de desechos industriales



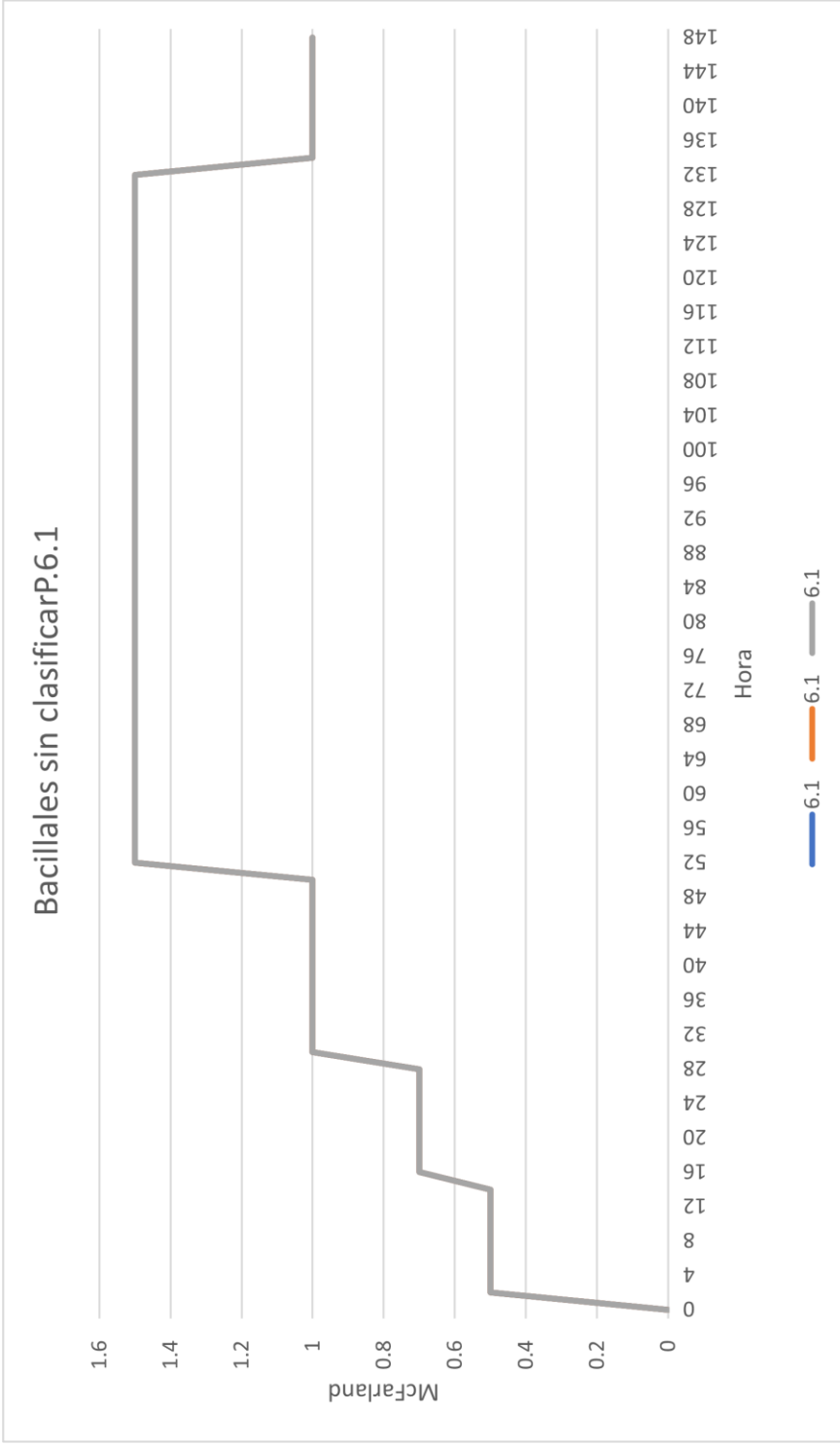
Leyenda Figura No. 100: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.100: Curva de crecimiento de la muestra bacteriana. P.5.3B en medio de cultivo a base de desechos industriales



Leyenda Figura No. 101: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de la muestra bacteriana P.5.3B para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Figura No.101: Curva de crecimiento de la muestra Bacillales P.6.1 en medio de cultivo a base de desechos industriales



Leyenda Figura No. 102: en esta imagen se muestra la curva de crecimiento de la muestra Bacillales P.6.1 para la determinación de la productividad de carbonato de calcio.

Cuadro No. 10: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 1.1

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.017	Media	0.00066667
Error típico	0.003819686	Error típico	0.0001453
Mediana	0.0153	Mediana	0.0007
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.00661589	Desviación estándar	0.00025166
Varianza de la muestra	4.377E-05	Varianza de la muestra	6.3333E-08
Coefficiente de asimetría	1.079959583	Coefficiente de asimetría	-0.5855827
Rango	0.0129	Rango	0.0005
Mínimo	0.0114	Mínimo	0.0004
Máximo	0.0243	Máximo	0.0009
Suma	0.051	Suma	0.002
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.10: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 1.1 en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 11: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 2.2A

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0163	Media	0.00076667
Error típico	0.00095394	Error típico	0.00023333
Mediana	0.0162	Mediana	0.0007
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.00165227	Desviación estándar	0.00040415
Varianza de la muestra	0.00000273	Varianza de la muestra	1.6333E-07
Coefficiente de asimetría	0.27135476	Coefficiente de asimetría	0.72210865
Rango	0.0033	Rango	0.0008
Mínimo	0.0147	Mínimo	0.0004
Máximo	0.018	Máximo	0.0012
Suma	0.0489	Suma	0.0023
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.11: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 2.2A en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 12: Estadística descriptiva para la muestra de bacteria P. 2.2B

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0155	Media	0.00066667
Error típico	0.002830783	Error típico	0.00017638
Mediana	0.0153	Mediana	0.0006
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.00490306	Desviación estándar	0.00030551
Varianza de la muestra	0.00002404	Varianza de la muestra	9.3333E-08
Coefficiente de asimetría	0.183253406	Coefficiente de asimetría	0.93521953
Rango	0.0098	Rango	0.0006
Mínimo	0.0107	Mínimo	0.0004
Máximo	0.0205	Máximo	0.001
Suma	0.0465	Suma	0.002
Cuenta	3	Cuenta	3

Legenda Cuadro No.12: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra bacteriana. P. 2.2B en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 13: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 4.1A

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0385	Media	0.0005
Error típico	0.0078526	Error típico	0.00011547
Mediana	0.031	Mediana	0.0005
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.0136011	Desviación estándar	0.0002
Varianza de la muestra	0.00018499	Varianza de la muestra	0.00000004
Coefficiente de asimetría	1.72689091	Coefficiente de asimetría	-1.499E-15
Rango	0.0239	Rango	0.0004
Mínimo	0.0303	Mínimo	0.0003
Máximo	0.0542	Máximo	0.0007
Suma	0.1155	Suma	0.0015
Cuenta	3	Cuenta	3

Legenda Cuadro No.13: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 4.1A en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 14: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 4.1B

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.02946667	Media	0.0005
Error típico	0.00453223	Error típico	0.0001
Mediana	0.0328	Mediana	0.0004
Moda	NA	Moda	0.0004
Desviación estándar	0.00785005	Desviación estándar	0.00017321
Varianza de la muestra	6.1623E-05	Varianza de la muestra	0.00000003
Coefficiente de asimetría	-1.566282	Coefficiente de asimetría	1.73205081
Rango	0.0146	Rango	0.0003
Mínimo	0.0205	Mínimo	0.0004
Máximo	0.0351	Máximo	0.0007
Suma	0.0884	Suma	0.0015
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.14: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 4.1B en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 15: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.2A

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.03453333	Media	0.00066667
Error típico	0.01038048	Error típico	0.00017638
Mediana	0.0283	Mediana	0.0006
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.01797953	Desviación estándar	0.00030551
Varianza de la muestra	0.00032326	Varianza de la muestra	9.3333E-08
Coefficiente de asimetría	1.37259168	Coefficiente de asimetría	0.93521953
Rango	0.0343	Rango	0.0006
Mínimo	0.0205	Mínimo	0.0004
Máximo	0.0548	Máximo	0.001
Suma	0.1036	Suma	0.002
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.15: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.2A en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 16: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.2B

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0122	Media	0.00063333
Error típico	0.002570992	Error típico	8.8192E-05
Mediana	0.0133	Mediana	0.0006
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.004453089	Desviación estándar	0.00015275
Varianza de la muestra	0.00001983	Varianza de la muestra	2.3333E-08
Coefficiente de asimetría	-1.043760372	Coefficiente de asimetría	0.93521953
Rango	0.0087	Rango	0.0003
Mínimo	0.0073	Mínimo	0.0005
Máximo	0.016	Máximo	0.0008
Suma	0.0366	Suma	0.0019
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.16: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.2B en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 17: Estadística descriptiva para la muestra de *Staphylococcus* sp. P. 5.2C

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0126	Media	0.0007
Error típico	0.00055678	Error típico	0.00011547
Mediana	0.0122	Mediana	0.0007
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.00096437	Desviación estándar	0.0002
Varianza de la muestra	0.00000093	Varianza de la muestra	0.00000004
Coefficiente de asimetría	1.54539253	Coefficiente de asimetría	0
Rango	0.0018	Rango	0.0004
Mínimo	0.0119	Mínimo	0.0005
Máximo	0.0137	Máximo	0.0009
Suma	0.0378	Suma	0.0021
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.17: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Staphylococcus* sp. P. 5.2C en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 18: Estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.3A

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.03933333	Media	0.00066667
Error típico	0.01047288	Error típico	6.6667E-05
Mediana	0.0345	Mediana	0.0006
Moda	NA	Moda	0.0006
Desviación estándar	0.01813955	Desviación estándar	0.00011547
Varianza de la muestra	0.00032904	Varianza de la muestra	1.3333E-08
Coficiente de asimetría	1.11390922	Coficiente de asimetría	1.73205081
Rango	0.0353	Rango	0.0002
Mínimo	0.0241	Mínimo	0.0006
Máximo	0.0594	Máximo	0.0008
Suma	0.118	Suma	0.002
Cuenta	3	Cuenta	3

Legenda Cuadro No.18: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Lysinibacillus* sp. P. 5.3A en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 19: Estadística descriptiva para de *Lysinibacillus* sp./ *Bacillus* sp. P. 5.3B

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.02113333	Media	0.0005
Error típico	0.00246599	Error típico	5.7735E-05
Mediana	0.0223	Mediana	0.0005
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.00427122	Desviación estándar	0.0001
Varianza de la muestra	1.8243E-05	Varianza de la muestra	1E-08
Coficiente de asimetría	-1.1374508	Coficiente de asimetría	7.494E-15
Rango	0.0083	Rango	0.0002
Mínimo	0.0164	Mínimo	0.0004
Máximo	0.0247	Máximo	0.0006
Suma	0.0634	Suma	0.0015
Cuenta	3	Cuenta	3

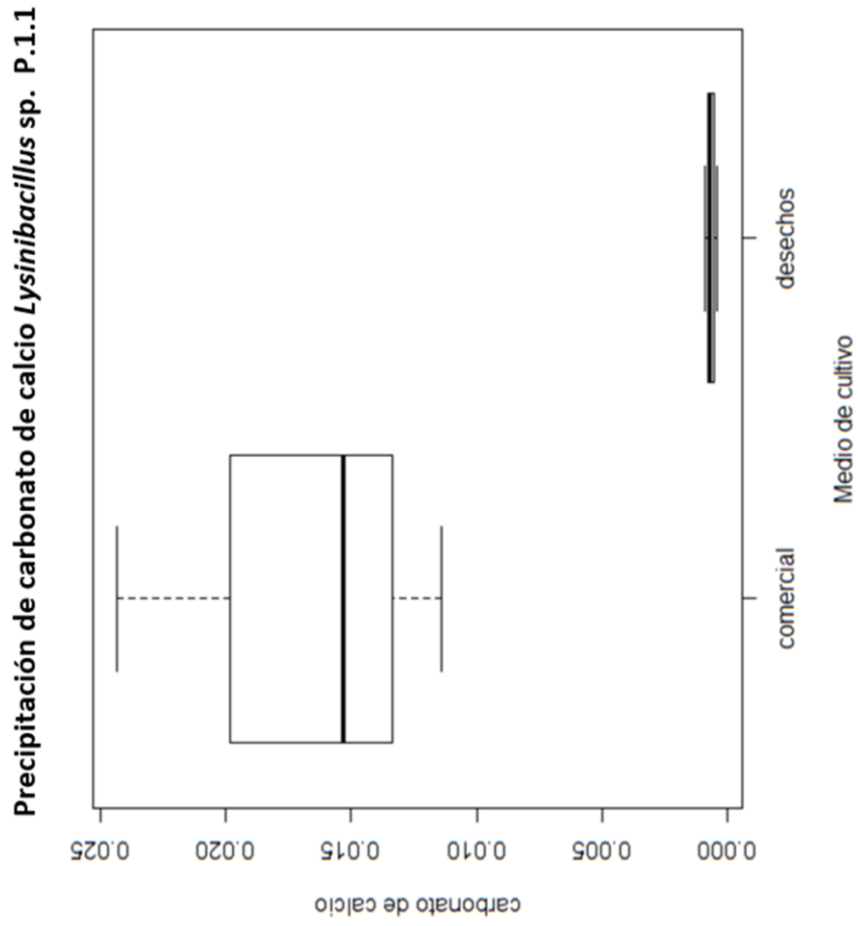
Legenda Cuadro No.19: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra bacteriana P. 5.3B en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

Cuadro No. 20: Estadística descriptiva para la muestra de Bacillales sin identificar. P. 6.1

<i>Medio comercial</i>		<i>Medio a base de desechos industriales</i>	
Media	0.0251	Media	0.00076667
Error típico	0.003034798	Error típico	0.0001453
Mediana	0.0248	Mediana	0.0008
Moda	NA	Moda	NA
Desviación estándar	0.005256425	Desviación estándar	0.00025166
Varianza de la muestra	0.00002763	Varianza de la muestra	6.3333E-08
Coefficiente de asimetría	0.25599199	Coefficiente de asimetría	-0.5855827
Rango	0.0105	Rango	0.0005
Mínimo	0.02	Mínimo	0.0005
Máximo	0.0305	Máximo	0.001
Suma	0.0753	Suma	0.0023
Cuenta	3	Cuenta	3

Leyenda Cuadro No.20: en este cuadro se muestra la estadística descriptiva para la muestra de *Bacillales* sp. P. 6.1 en un medio comercial y uno da base de desechos industriales.

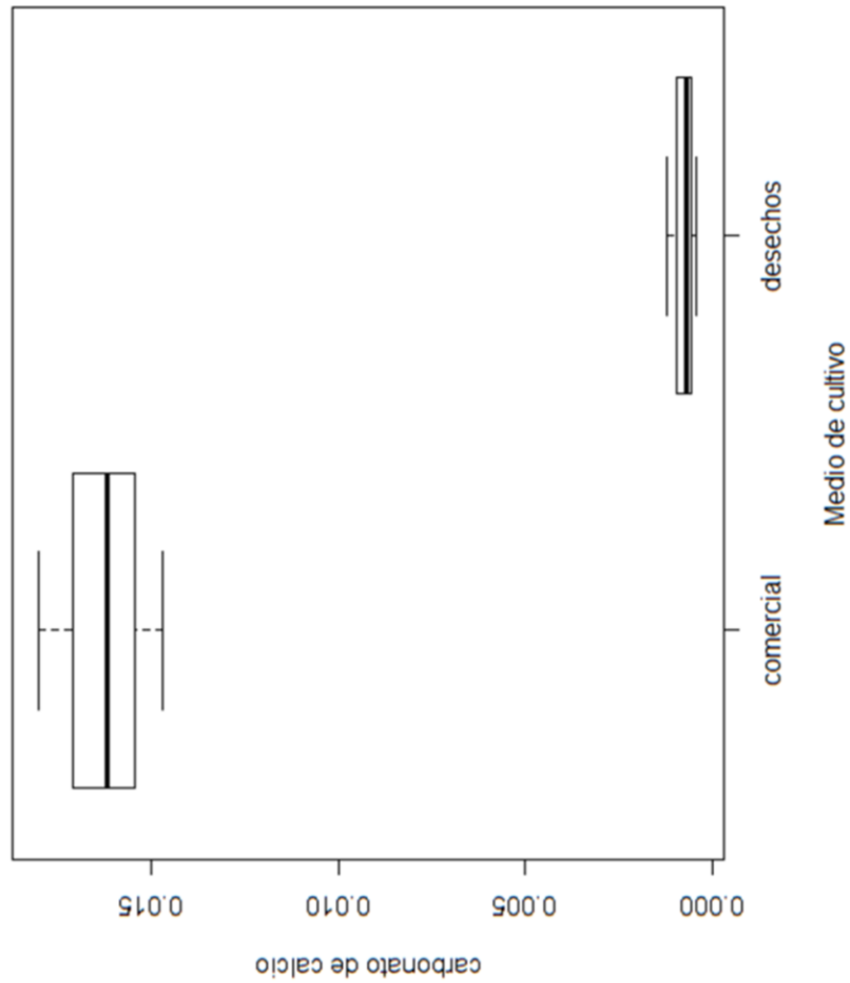
Figura No. 102: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.1.1 en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



Leyenda Figura No.103: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.1.1 se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

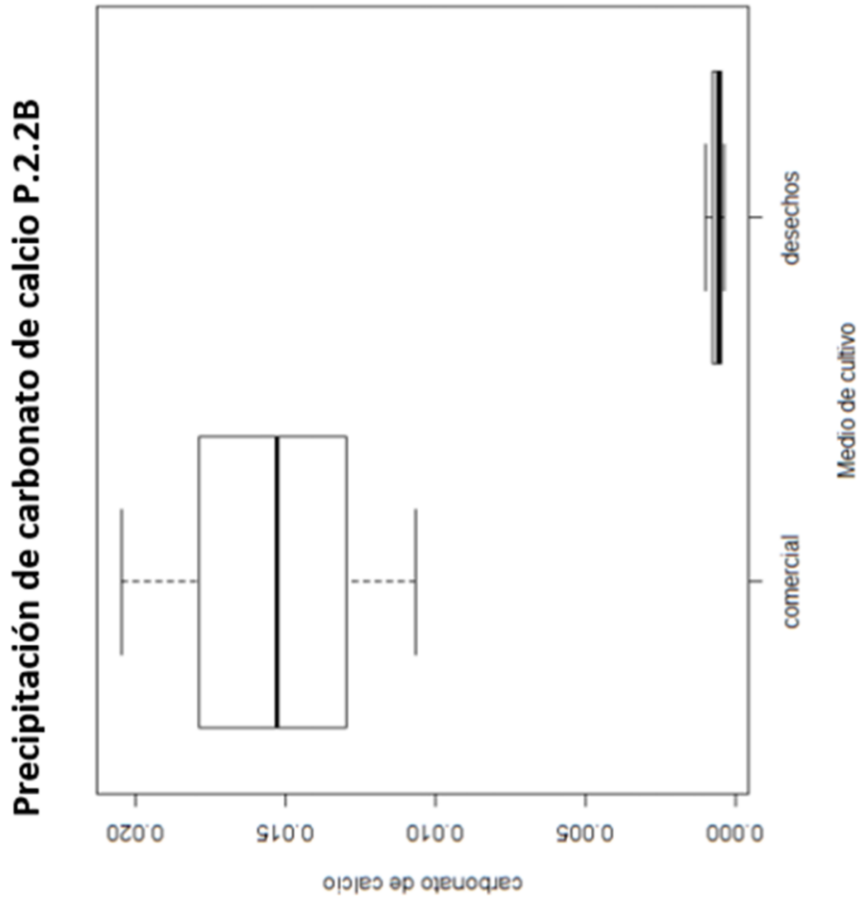
Figura No.103: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.2.2A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

Precipitación de carbonato de calcio *Lysinibacillus* sp. P.2.2A



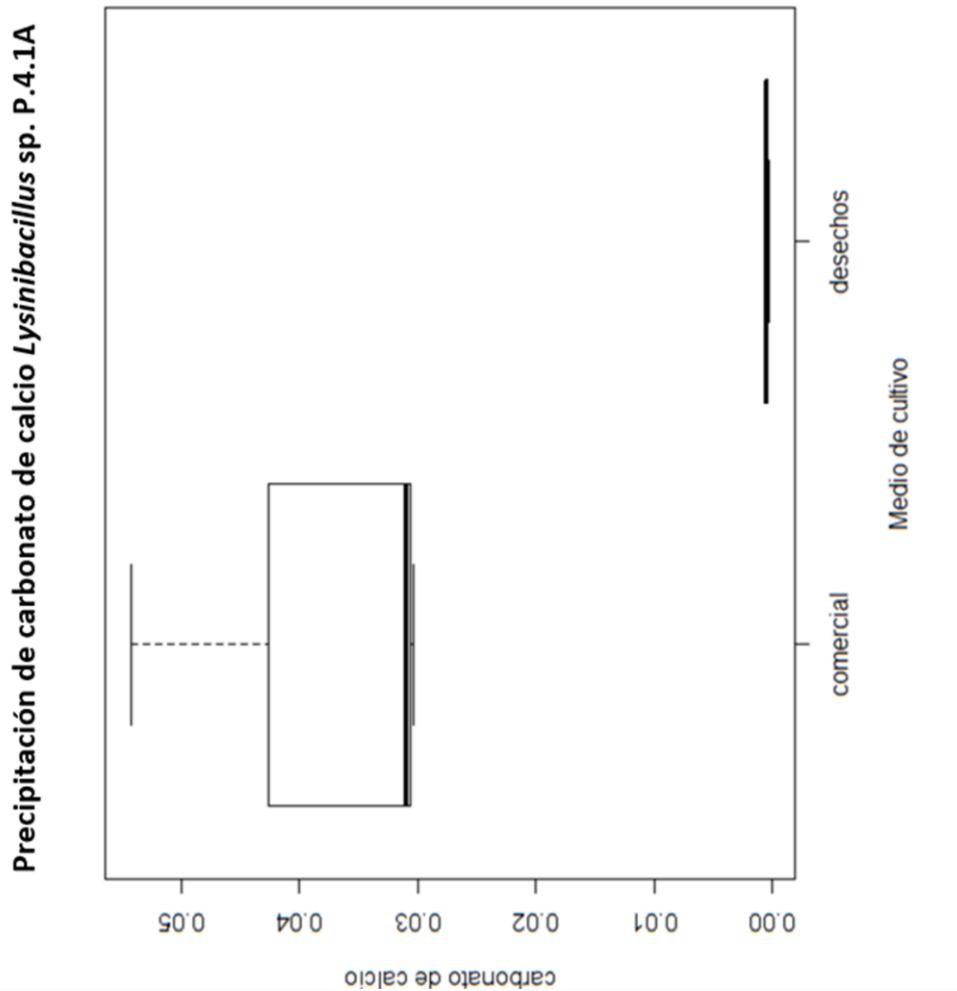
Leyenda Figura No.104: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.2.2A se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.104: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra bacteriana P.2.2B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



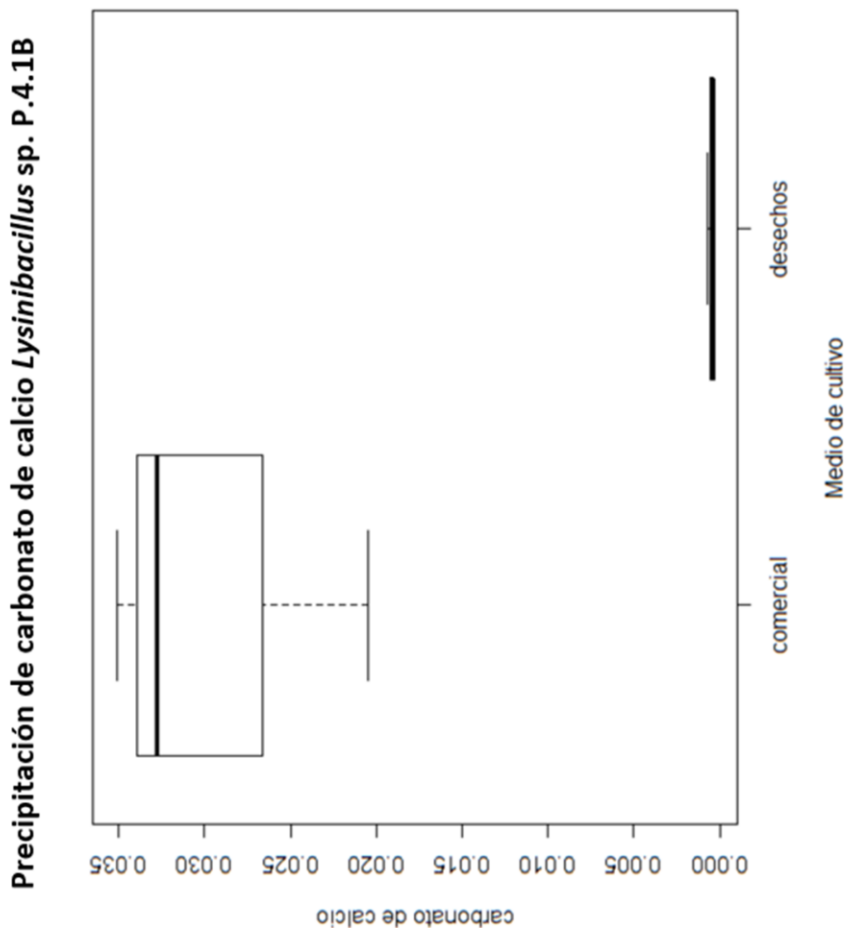
Leyenda Figura No.105: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra bacteriana. P.2.2B se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.105: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.4.1A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



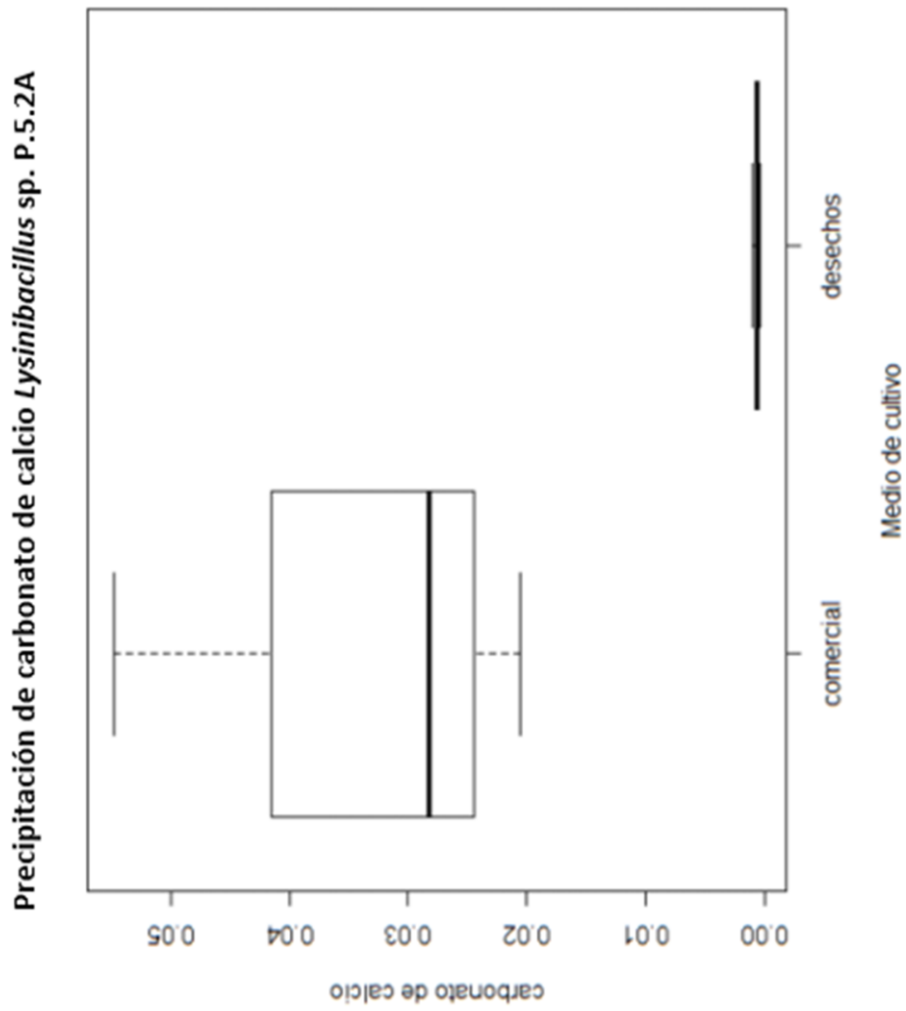
Leyenda Figura No.106: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1A se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No. 106: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.4.1B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



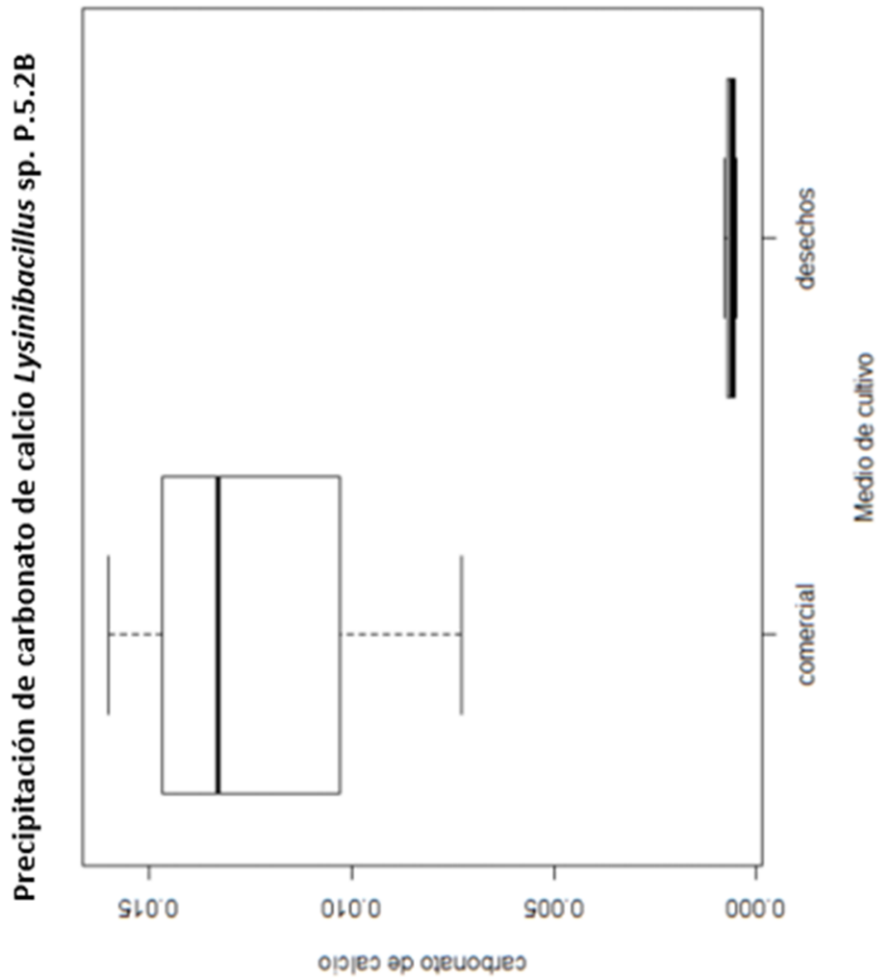
Leyenda Figura No. 107: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.4.1B se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.107: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.5.A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



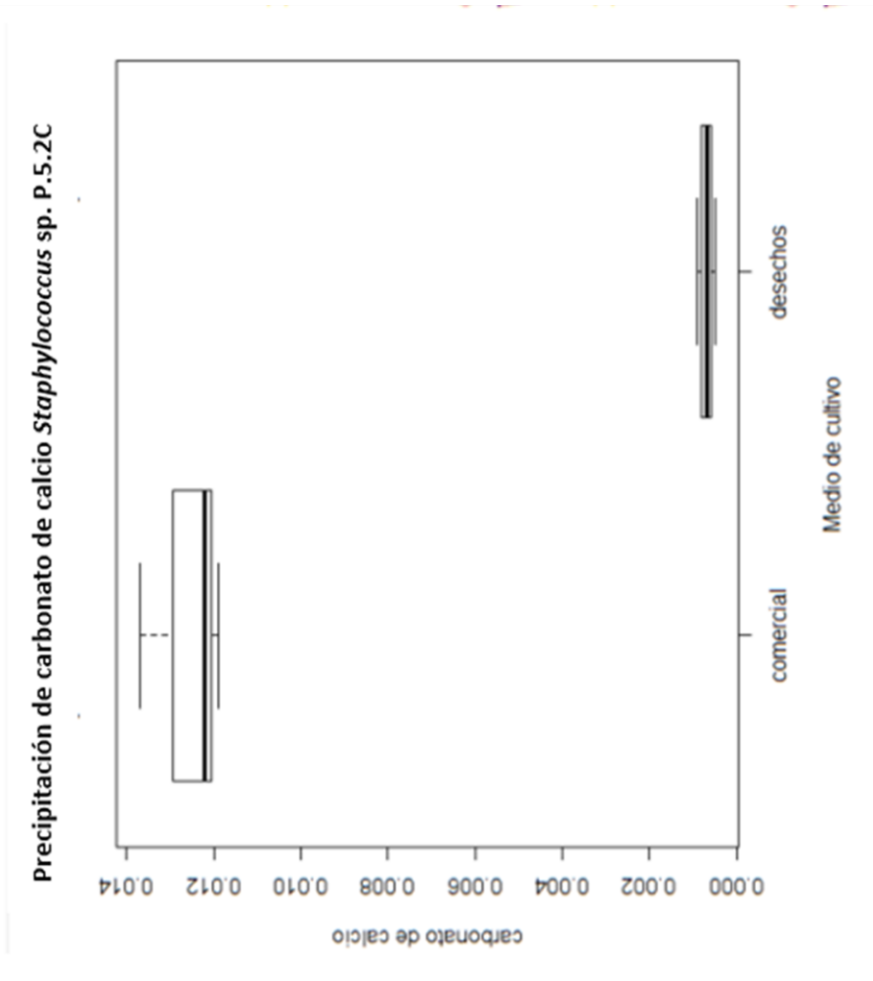
Leyenda Figura No.108: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2A se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.108: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.5.2B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



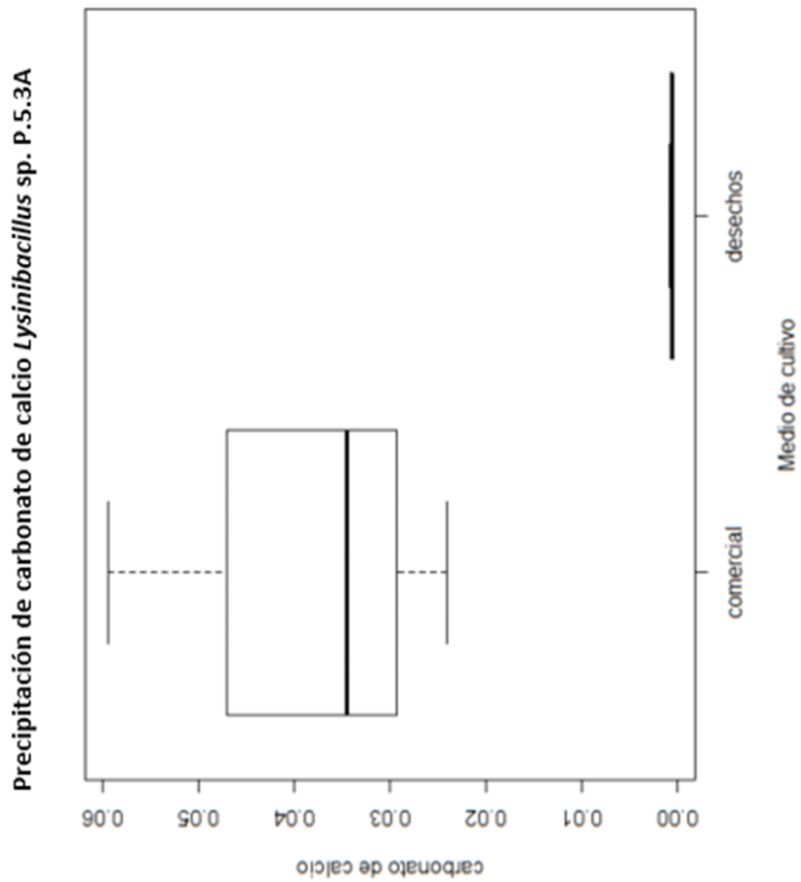
Leyenda Figura No.109: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.2B se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.109: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Staphylococcus* sp. P.5.2C en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



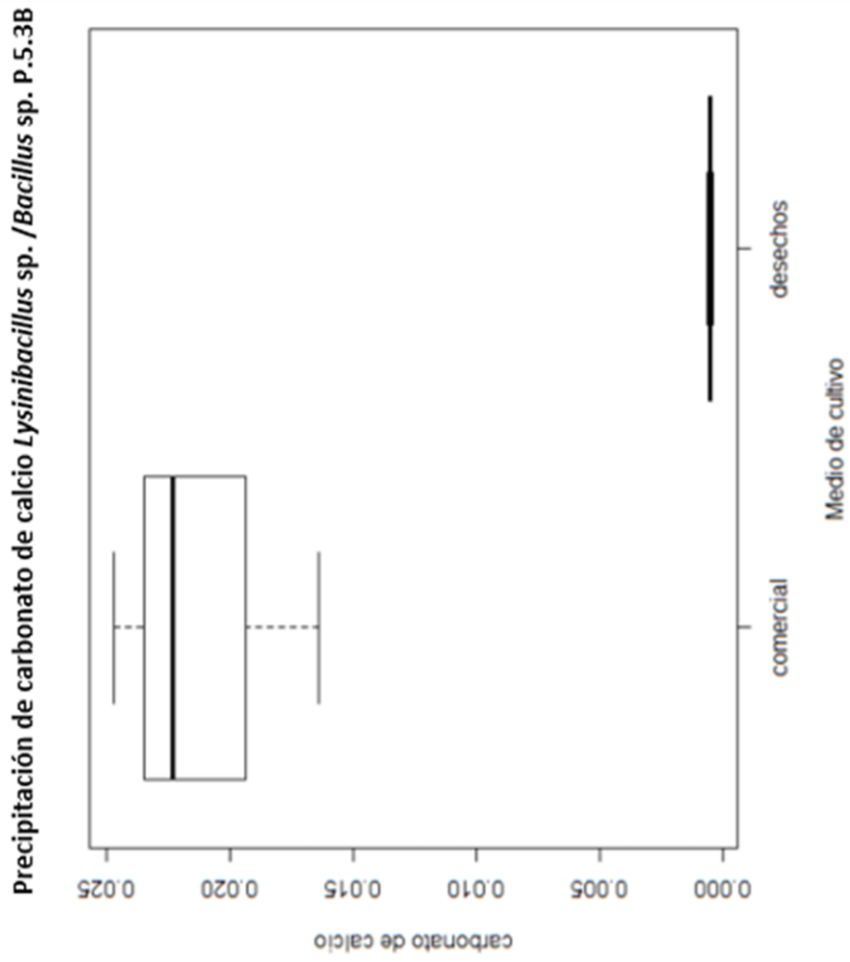
Leyenda Figura No.110: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Staphylococcus* sp. P.5.2C se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.110: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus* sp. P.5.3A en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



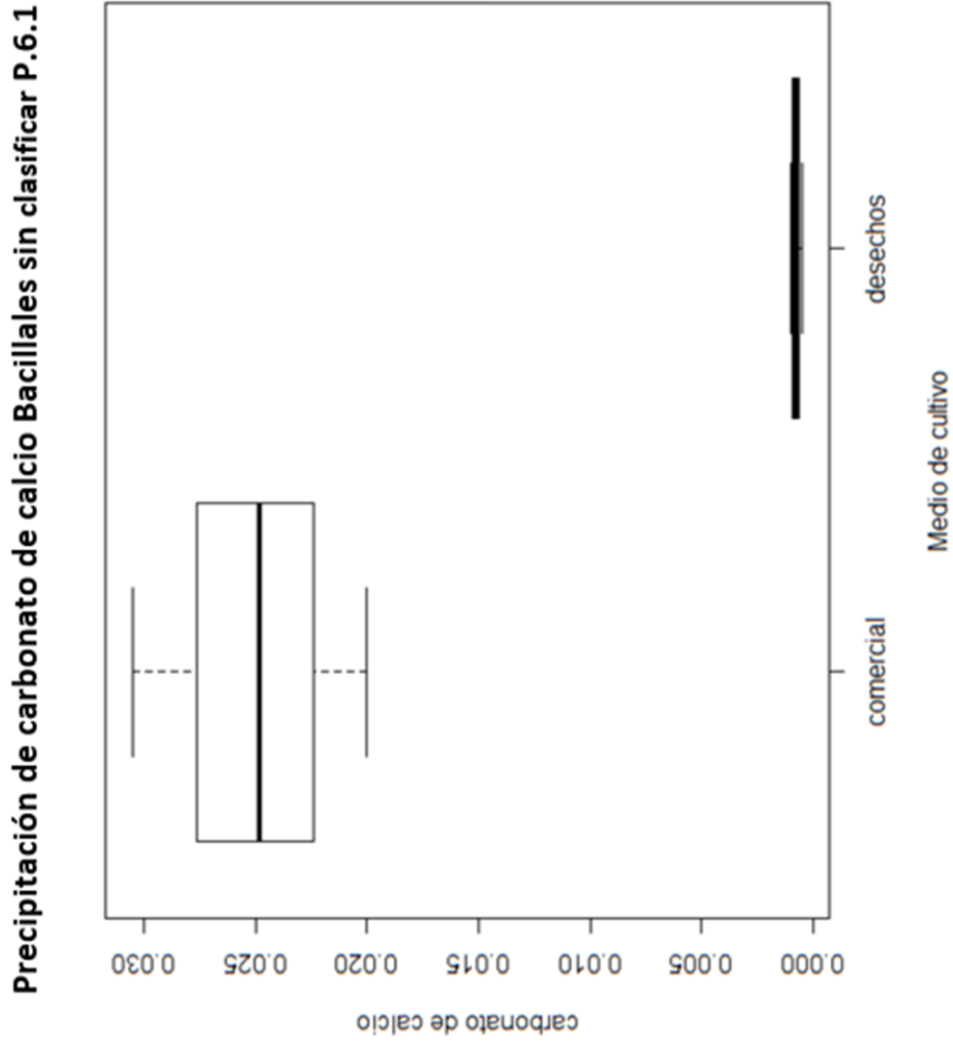
Leyenda Figura No.111: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra de *Lysinibacillus* sp. P.5.3A se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.111: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por *Lysinibacillus sp./ Bacillus sp.* P.5.3B en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



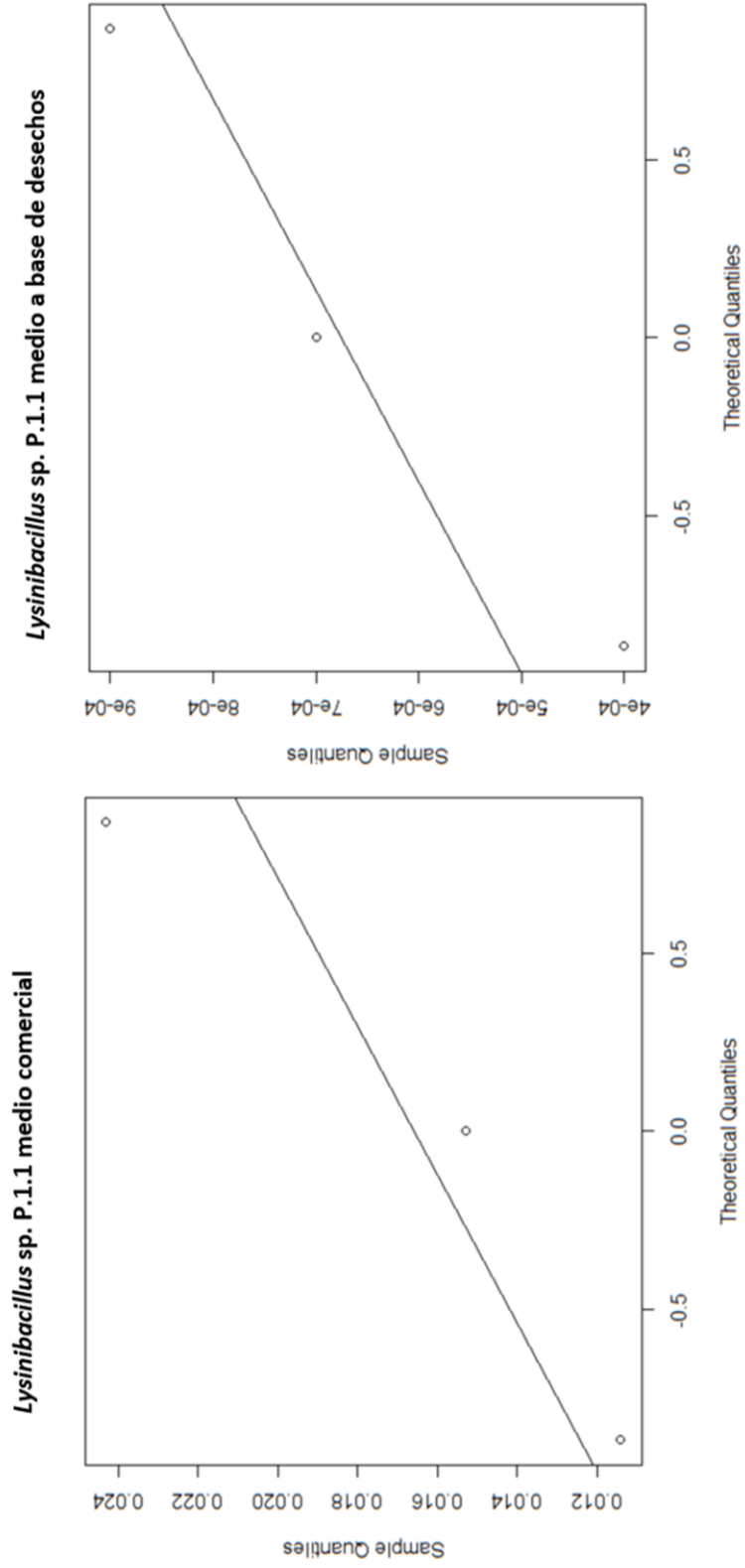
Leyenda Figura No.112: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra *Lysinibacillus sp. / Bacillus sp.* P.5.3B se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.112: Diagrama de caja y bigote para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales. P.6.1 en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.



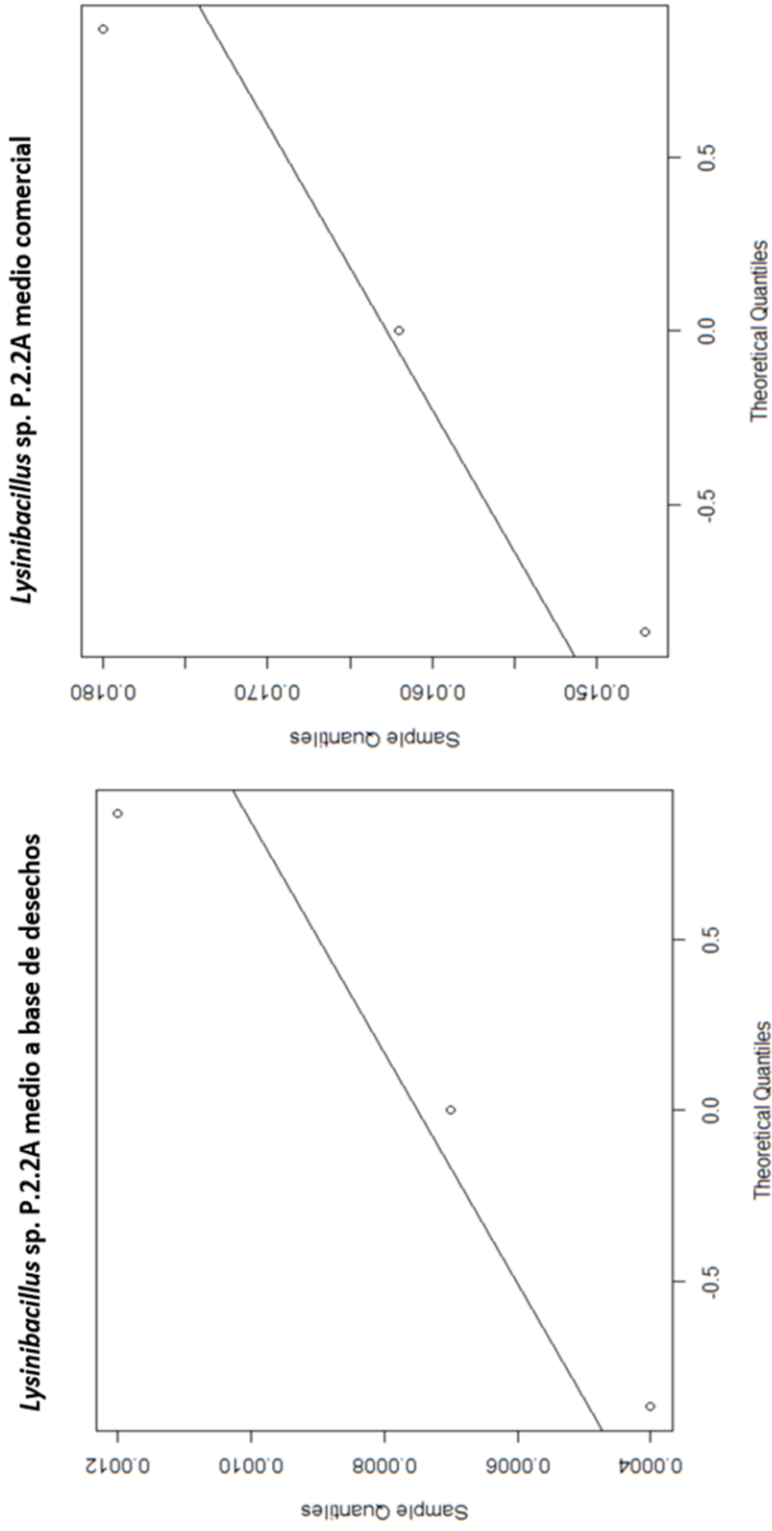
Leyenda Figura No. 113: en esta imagen se puede observar el diagrama de caja y bigote para los valores en g de precipitación de carbonato de calcio cuando la muestra Bacillales..P.6.1 se encuentra en un medio comercial y en uno a base de desechos industriales.

Figura No.113: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



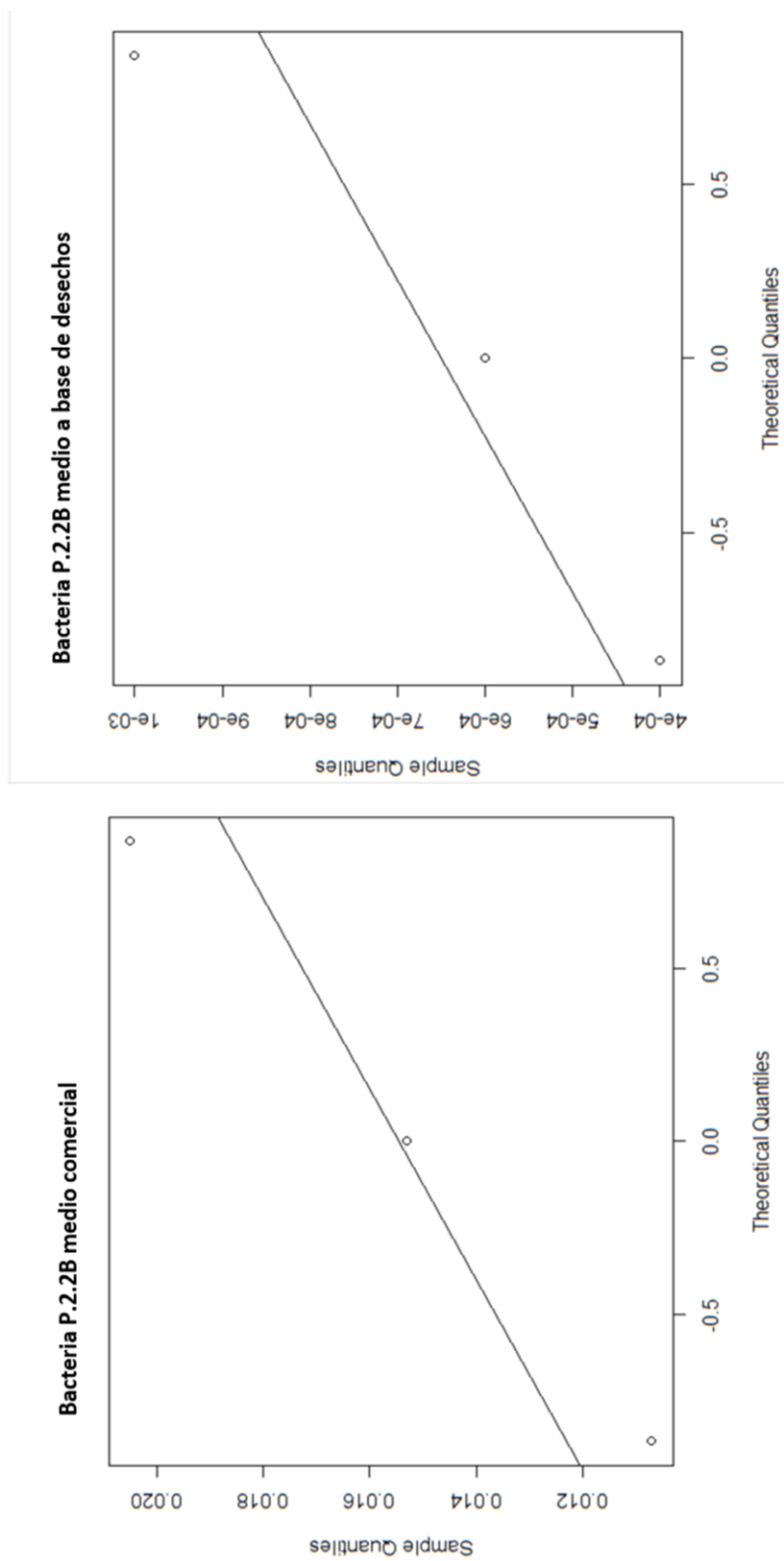
Leyenda Figura No. 114: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1 para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.114: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



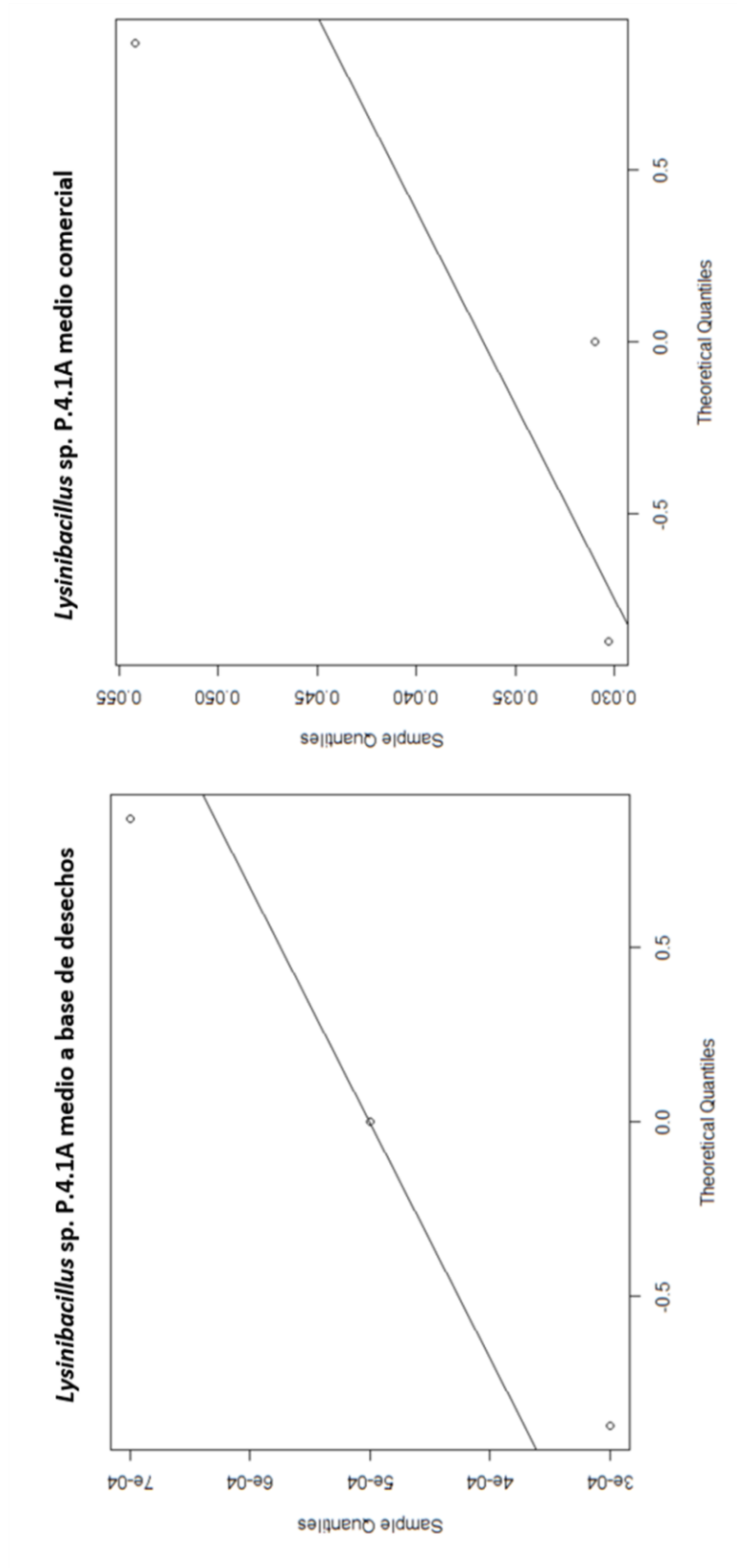
Leyenda Figura No. 115: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.115: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



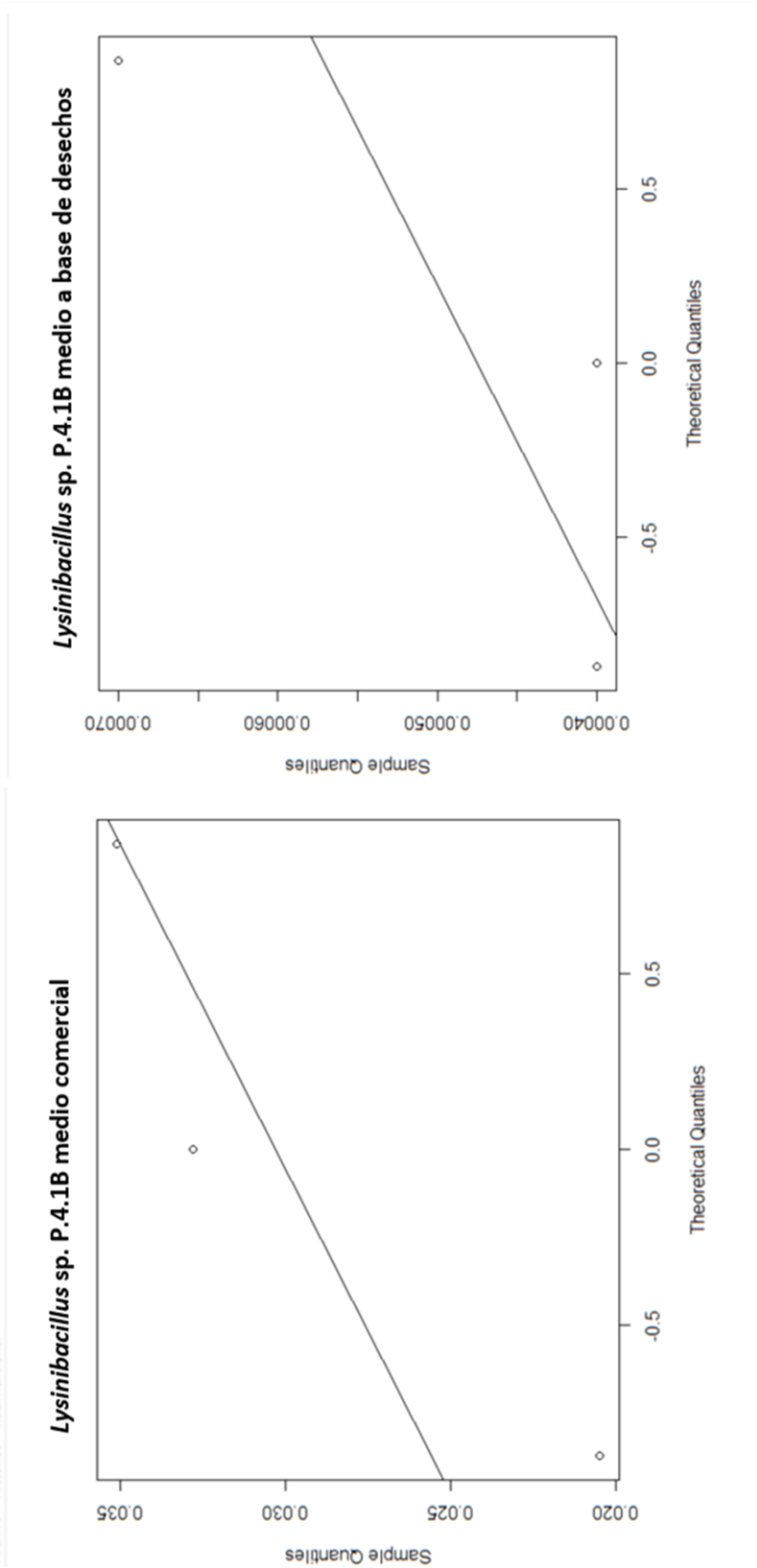
Leyenda Figura No. 116: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra bacteriana P.2.2B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.116: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



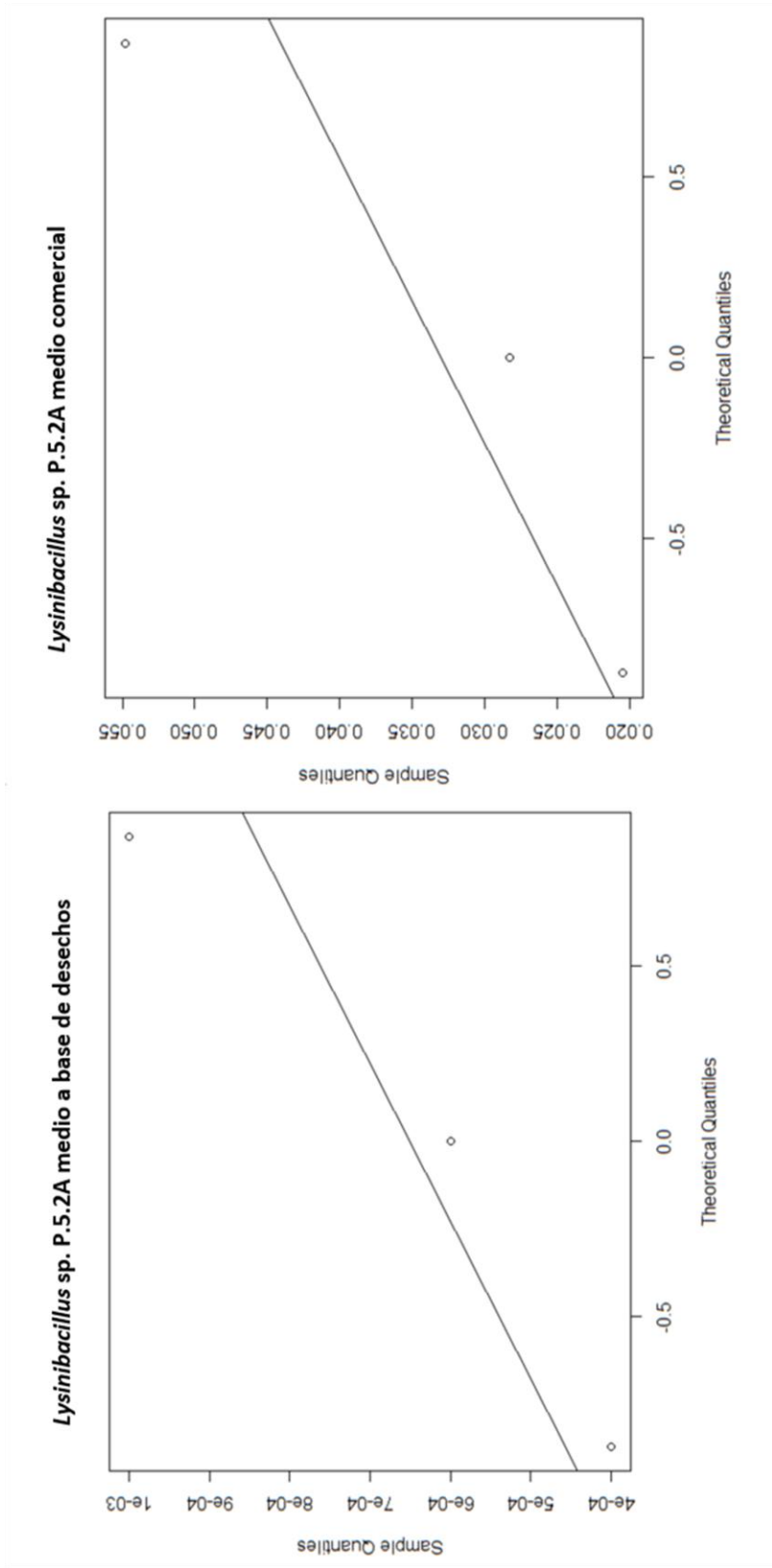
Leyenda Figura No. 117: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.117: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



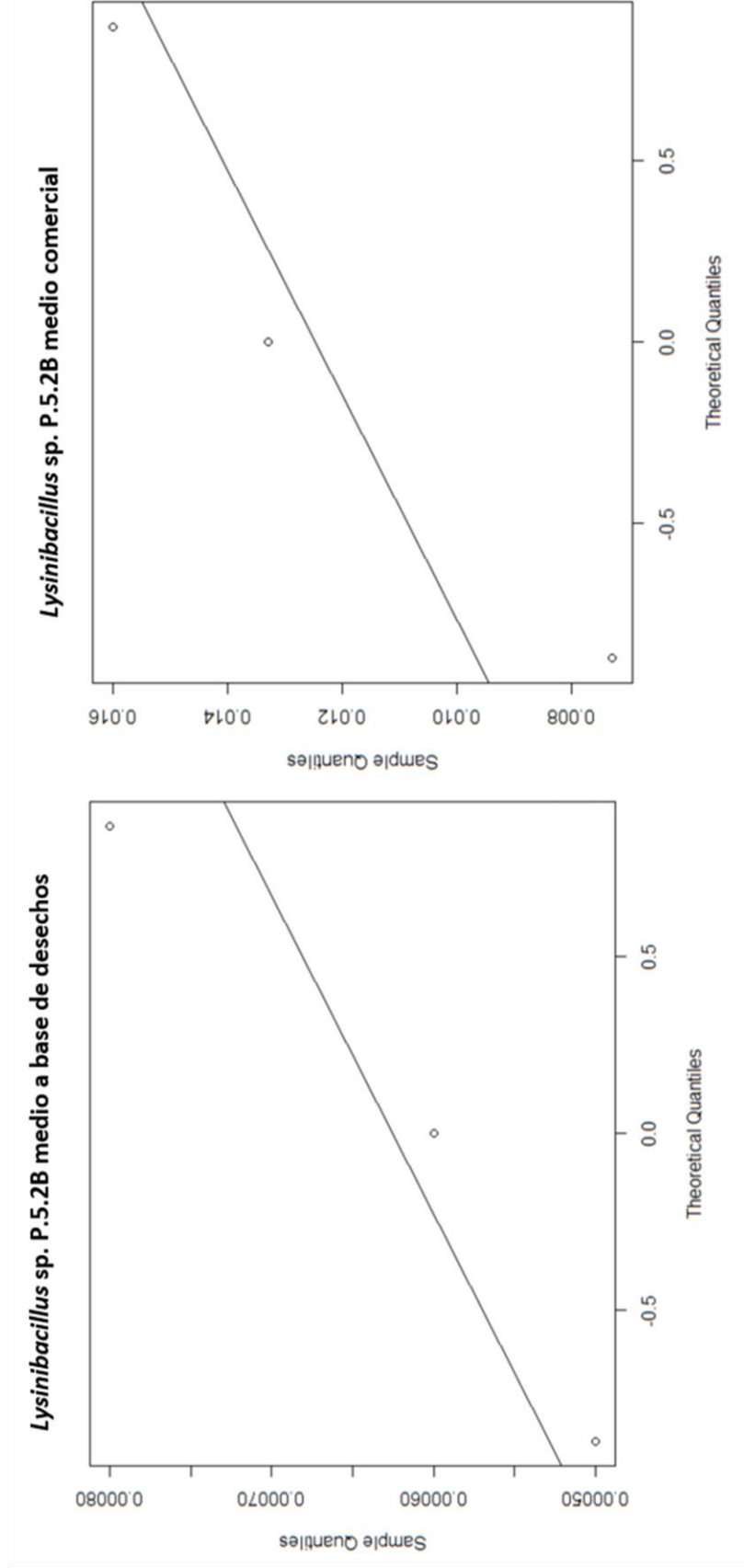
Leyenda Figura No. 118: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.118: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



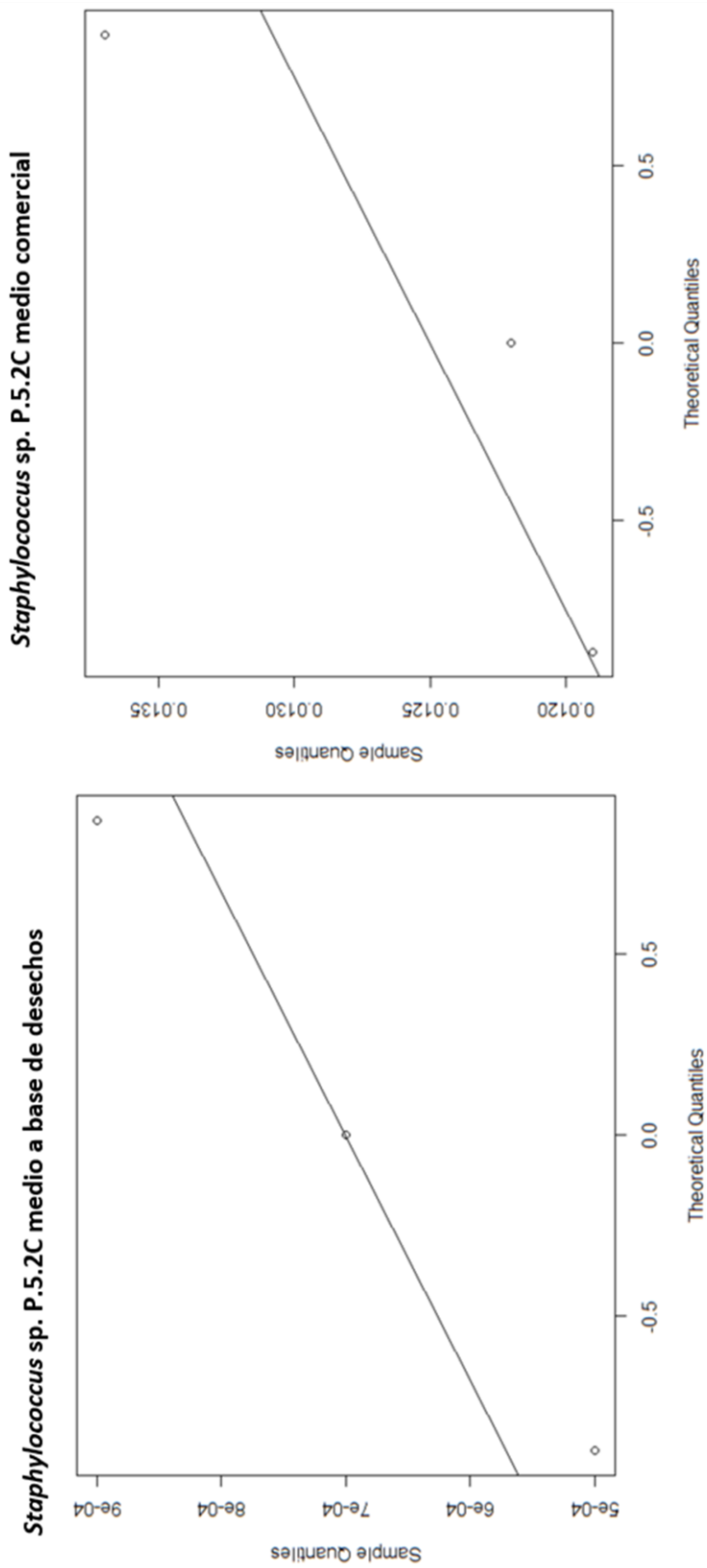
Leyenda Figura No. 119: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.119: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



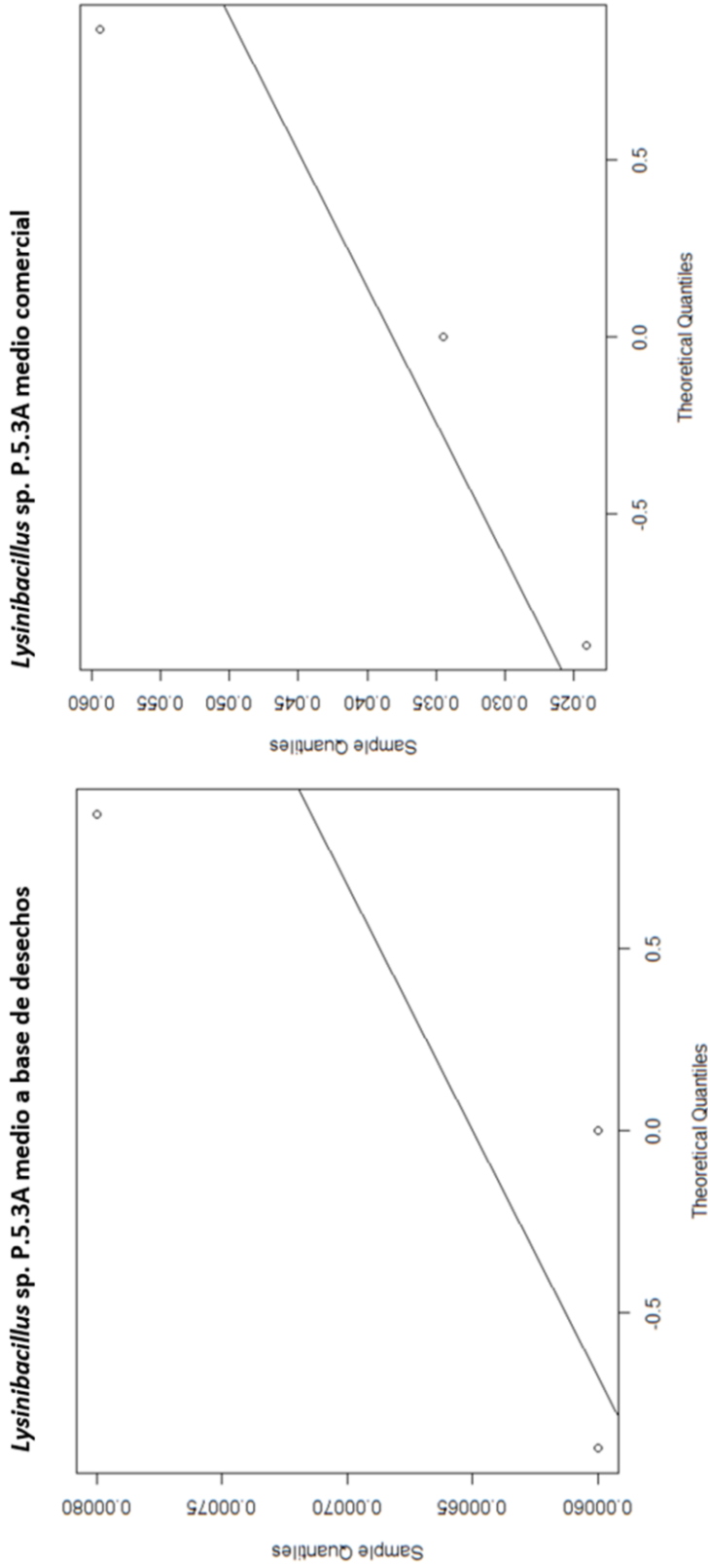
Leyenda Figura No. 120: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.120: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Staphylococcus sp.* P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



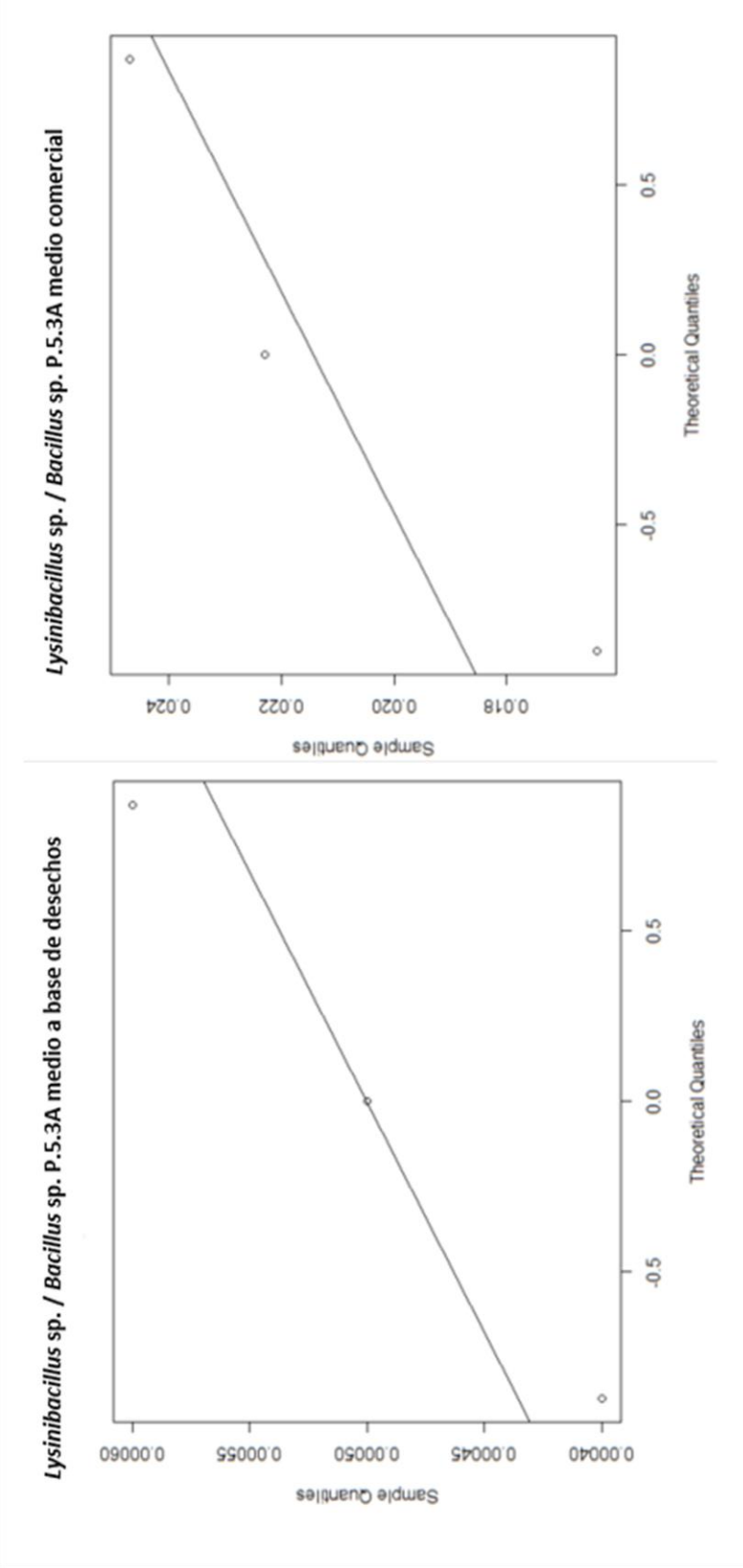
Leyenda Figura No. 121: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Staphylococcus sp.* P.5.2C para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.121: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



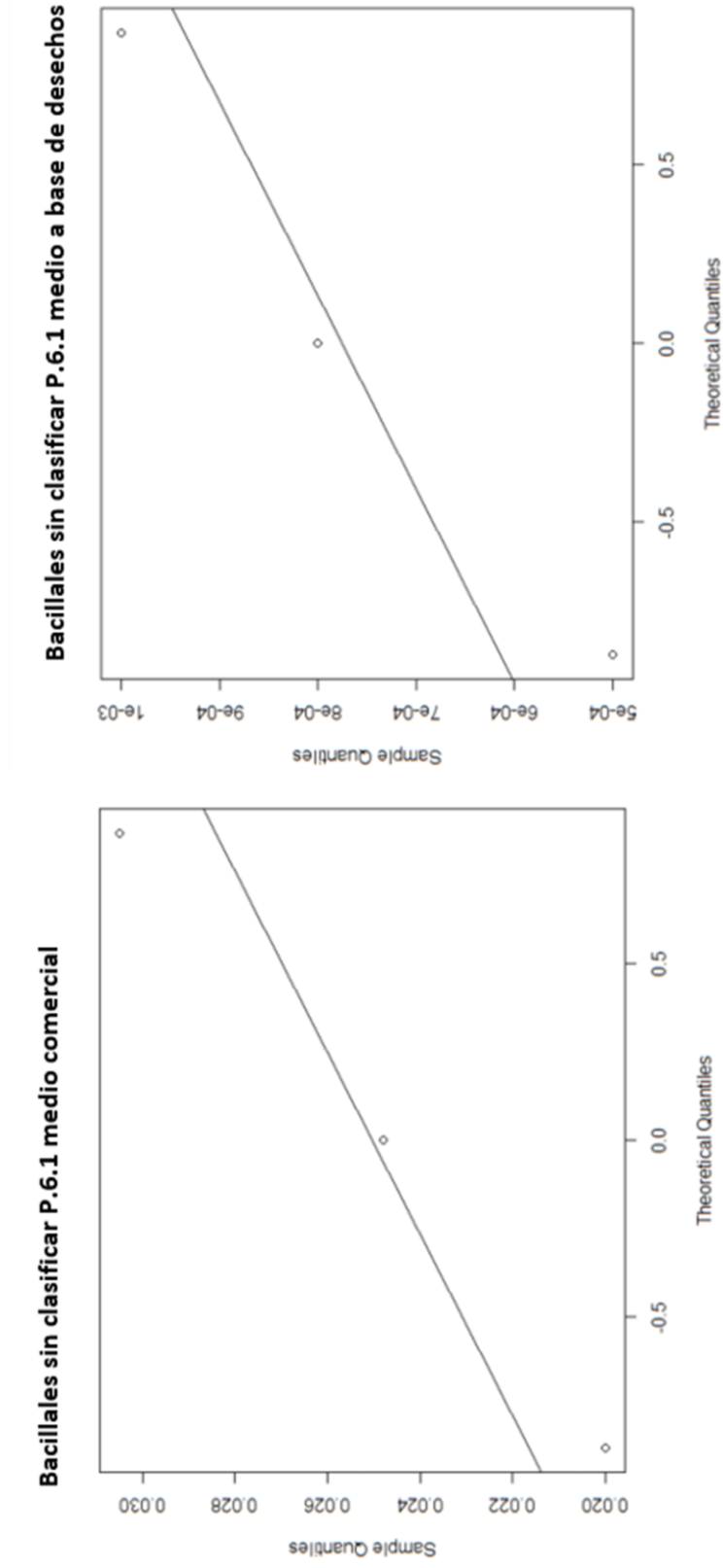
Leyenda Figura No. 122: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.122: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus sp./ Bacillus sp.* P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



Leyenda Figura No. 123: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus sp./ Bacillus sp.* P.5.3B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.123: Diagrama Q-Q para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales P.6.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales



Leyenda Figura No. 124: En esta imagen se muestran los diagramas Q-Q realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra Bacillales P.6.1 para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.124: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.1.1$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.1.1$comercial
W = 0.95048, p-value = 0.5714

> shapiro.test(P.1.1$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.1.1$desechos
W = 0.98684, p-value = 0.7804
```

Leyenda Figura No. 125: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1 para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.125: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.2.2A$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.2.2A$comercial
W = 0.99725, p-value = 0.8999

> shapiro.test(P.2.2A$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.2.2A$desechos
W = 0.97959, p-value = 0.7262
```

Leyenda Figura No. 126: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.126: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.2.2B$comercial)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.2.2B$comercial
W = 0.99875, p-value = 0.9325

> shapiro.test(P.2.2B$desechos)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.2.2B$desechos
W = 0.96429, p-value = 0.6369
```

Leyenda Figura No. 127: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra bacteriana P.2.2B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.127: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.4.1A$comercial)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.4.1A$comercial
W = 0.77195, p-value = 0.04915

> shapiro.test(P.4.1A$desechos)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.4.1A$desechos
W = 1, p-value = 1
```

Leyenda Figura No. 128: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.128: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.4.1B$comercial)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.4.1B$comercial
W = 0.86477, p-value = 0.2808

> shapiro.test(P.4.1B$desechos)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.4.1B$desechos
W = 0.75, p-value < 2.2e-16
```

Leyenda Figura No. 129: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.129: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.5.2A$comercial)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2A$comercial
W = 0.90985, p-value = 0.4176

> shapiro.test(P.5.2A$desechos)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2A$desechos
W = 0.96429, p-value = 0.6369
```

Leyenda Figura No. 130: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura 130: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.5.2B$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2B$comercial
W = 0.95424, p-value = 0.5883

> shapiro.test(P.5.2B$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2B$desechos
W = 0.96429, p-value = 0.6369
```

Leyenda Figura No. 131: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.131: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Staphylococcus* sp. P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.5.2C$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2C$comercial
W = 0.87097, p-value = 0.2983

> shapiro.test(P.5.2C$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.2C$desechos
W = 1, p-value = 1
```

Leyenda Figura No. 132: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Staphylococcus* sp. P.5.2C para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.132: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.5.3A$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.3A$comercial
W = 0.94675, p-value = 0.5553

> shapiro.test(P.5.3A$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.3A$desechos
W = 0.75, p-value < 2.2e-16
```

Leyenda Figura No. 133: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.133: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp./*Bacillus* sp. P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.5.3B$comercial)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.3B$comercial
W = 0.94404, p-value = 0.5439

> shapiro.test(P.5.3B$desechos)

Shapiro-Wilk normality test

data:  P.5.3B$desechos
W = 1, p-value = 1
```

Leyenda Figura No. 134: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. / *Bacillus* sp.P.5.3B para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.134: Prueba shapiro para la precipitación de carbonato de calcio por muestra Bacillales P.6.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales

```
> shapiro.test(P.6.1$comercial)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.6.1$comercial
W = 0.99756, p-value = 0.9056

> shapiro.test(P.6.1$desechos)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  P.6.1$desechos
W = 0.98684, p-value = 0.7804
```

Leyenda figura No. 135: En esta imagen se muestran los resultados de la prueba shapiro realizados con los datos de precipitación de carbonato de calcio por la muestra Bacillales P.6.1 para observar la distribución de los datos. Se puede observar que los datos no están distribuidos de forma normal.

Figura No.135: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1 al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.1.1$comercial, P.1.1$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.1.1$comercial and P.1.1$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.136: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.1.1.

Figura No.136: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.2.2A$comercial, P.2.2A$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.2.2A$comercial and P.2.2A$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.137: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.2.2A.

Figura No.137: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra bacteriana P.2.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.2.2B$comercial, P.2.2B$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.2.2B$comercial and P.2.2B$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.138: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra bacteriana P.2.2B.

Figura No.138: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.4.1A$comercial, P.4.1A$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.4.1A$comercial and P.4.1A$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.139: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1A.

Figura No.139: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.4.1B$comercial, P.4.1B$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test with continuity correction

data:  P.4.1B$comercial and P.4.1B$desechos
W = 9, p-value = 0.03826
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0

Warning message:
In wilcox.test.default(P.4.1B$comercial, P.4.1B$desechos, alternative = "greater") :
  cannot compute exact p-value with ties
```

Leyenda Figura No.140: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.4.1B.

Figura No.140: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.5.2A$comercial, P.5.2A$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.5.2A$comercial and P.5.2A$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.141: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2A.

Figura No.141: Prueba Wilcoxon Mann- Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.5.2B$comercial, P.5.2B$desechos, alternative='greater')

      Wilcoxon rank sum test

data:  P.5.2B$comercial and P.5.2B$desechos
W = 9, p-value = 0.05
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.142: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.2B.

Figura No.142: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Staphylococcus* sp. P.5.2C al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.5.2C$comercial, P.5.2C$desechos, alternative='greater')  
  
Wilcoxon rank sum test  
  
data: P.5.2C$comercial and P.5.2C$desechos  
W = 9, p-value = 0.05  
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.143: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Staphylococcus* sp. P.5.2C.

Figura No.143: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

```
> wilcox.test(P.5.3A$comercial, P.5.3A$desechos, alternative='greater')  
  
Wilcoxon rank sum test with continuity correction  
  
data: P.5.3A$comercial and P.5.3A$desechos  
W = 9, p-value = 0.03826  
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0  
  
Warning message:  
In wilcox.test.default(P.5.3A$comercial, P.5.3A$desechos, alternative = "greater") :  
cannot compute exact p-value with ties
```

Leyenda Figura No.144: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. P.5.3A.

Figura No.144: Prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por muestra *Lysinibacillus* sp. / *Bacillus* sp. P.5.3B al estar en un medio comercial y uno a base de desechos industriales.

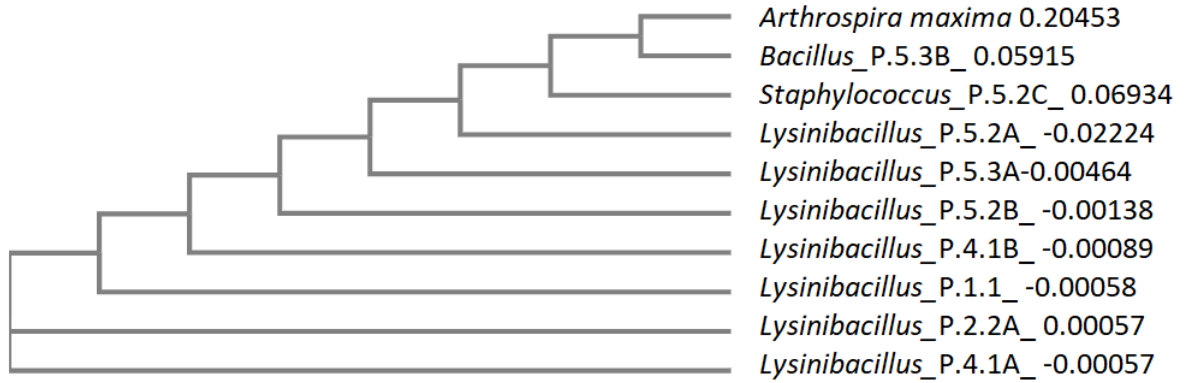
```
> wilcox.test(P.5.3B$comercial, P.5.3B$desechos, alternative='greater')  
  
Wilcoxon rank sum test  
  
data: P.5.3B$comercial and P.5.3B$desechos  
W = 9, p-value = 0.05  
alternative hypothesis: true location shift is greater than 0
```

Leyenda Figura No.145: en esta imagen se muestran los resultados de la prueba Wilcoxon Mann-Whitney para la precipitación de carbonato de calcio por la muestra *Lysinibacillus* sp. / *Bacillus* sp. P.5.3B.

Lysinibacillus(P.5.3A)	CNTGNANGNANNTGCANNCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTANCTCCC	165
Lysinibacillus(P.2.2A)	CATGTANGNGAGTTGCANCCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTANCTCCC	168
Bacillales_sin_clasificación(P.6.1)	CATGNAGGCGAGTTGCAGCCTNNNTCCGAAGTGANAANGNNTTTATGGGATTGGNTNNN	169
Staphylococcus(P.5.2C)	CATATAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAGTGAGAACAACTTTATGGGATTTGCTTGA	180
Lysinibacillus(P.5.3B)	CATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAAGTGAGAATGGCTTTATGGGATTCGCTTAC	175
Lysinibacillus(P.1.1)	CATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTAGCTCCC	169
Lysinibacillus(P.5.2B)	CATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTAGCTCCC	175
Lysinibacillus	CATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTAGCTCCC	168
Lysinibacillus(P.4.1B)	CATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAGAACGACTTTATCGGATTAGCTCCC	164
	* *	
Lysinibacillus(P.5.3A)	TCTCNCGAGTTGGCAACCGTTTGATCANNCCATTGNANCACGTGTGTANCCANGNCATA	225
Lysinibacillus(P.2.2A)	TCTCGCNAGNTGGNACCNGTTGNATCGTCCATTGNANNACGTGTGTANCCANGNCATA	228
Bacillales_sin_clasificación(P.6.1)	NCTGCGNNTNGNNTCCCTTTGNANCNTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	229
Staphylococcus(P.5.2C)	CCTCGCGGTTTNCNTNCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAATCATA	240
Lysinibacillus(P.5.3B)	CCTCGCAGGTTTGCAGCCCTTTGTACCATTGTTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	235
Lysinibacillus(P.1.1)	TCTCGCGAGTTGGCAACCGTTTGATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	229
Lysinibacillus(P.5.2B)	TCTCGCGAGTTGGCAACCGTTTGATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	235
Lysinibacillus	TCTCGCGAGTTGGCAACCGTTTGATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	228
Lysinibacillus(P.4.1B)	TCTCGCGAGTTGGCAACCGTTTGATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCCATA	224
	* *	
Lysinibacillus(P.5.3A)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGNTTGNACCNGNAGTCACCT	285
Lysinibacillus(P.2.2A)	AGGGGNATGATGATTTGACGTCATCCCNCTTCCCTCCNGNNTGNCNCCGGNAGTCACCT	288
Bacillales_sin_clasificación(P.6.1)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	289
Staphylococcus(P.5.2C)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	300
Lysinibacillus(P.5.3B)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	295
Lysinibacillus(P.1.1)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	289
Lysinibacillus(P.5.2B)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	295
Lysinibacillus	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	288
Lysinibacillus(P.4.1B)	AGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACTTCCTCCGGTTTGTACCCGCGAGTCACCT	284
	***** ***** ***** *	
Lysinibacillus(P.5.3A)	TANANNNGCCAATAAAT-	303
Lysinibacillus(P.2.2A)	TANAGTGCCCAACT-----	302
Bacillales_sin_clasificación(P.6.1)	TAGAGTGCCCAACTNA--	305
Staphylococcus(P.5.2C)	TAGAGTGCCCAACTTAA--	317
Lysinibacillus(P.5.3B)	TAGAGTGCCCAACTG---	310
Lysinibacillus(P.1.1)	TANAGTGCCCAACTA----	304
Lysinibacillus(P.5.2B)	TAGAGTGCCCAACTAA---	311
Lysinibacillus	TANAGTGCCCAACTAAATG	307
Lysinibacillus(P.4.1B)	TANAGTGCCCAACTAAAT-	302
	** *	

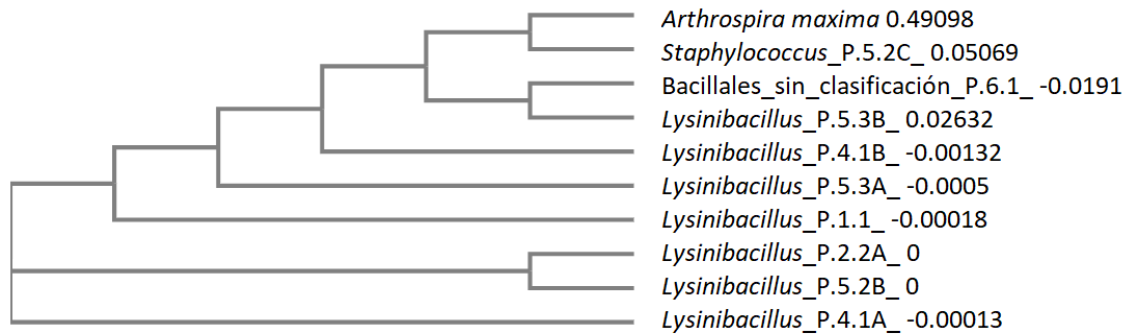
Leyenda Figura No.148: en esta imagen se muestra los alineamientos de la región limpia de las 9 secuencias reverse analizadas.

Figura No.148: árbol filogenético para las secuencias forward



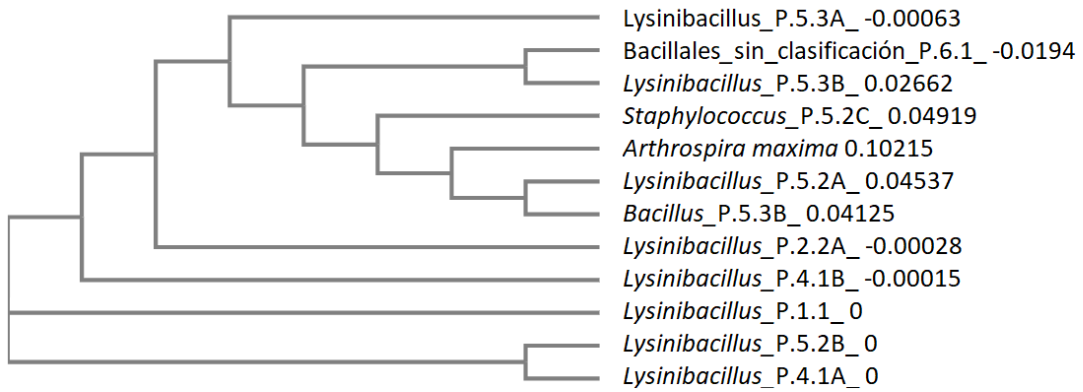
Leyenda Figura No.149: En este árbol se puede observar la cercanía entre cada uno de los géneros de las bacterias aisladas, utilizando *Arthrospira máxima* como grupo externo.

Figura No.149: árbol filogenético para las secuencias reverse



Leyenda Figura No.150: En este árbol se puede observar la cercanía entre cada uno de los géneros de las bacterias aisladas, utilizando *Arthrospira máxima* como grupo externo.

Figura No.150: árbol filogenético para las secuencias forward y reverse



Leyenda Figura No.151: En este árbol se puede observar la cercanía entre cada uno de los géneros de las bacterias aisladas, utilizando *Arthrospira máxima* como grupo externo.