



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



**Malezas con potencial para la fitorremediación de
suelo contaminado con plomo del botadero de
residuos sólidos municipales de Reque,
Lambayeque**

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:

Bach. Alejandro Jhordan Mago Córdova

Bach. Sergio Daniel Muro Del Valle

ASESORA:

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

LAMBAYEQUE, PERÚ

2022

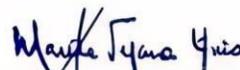
**Malezas con potencial para la fitorremediación de suelo
contaminado con plomo del botadero de residuos sólidos
municipales de Reque, Lambayeque**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

APROBADA POR:

Dra. Martha A. Vergara Espinoza



PRESIDENTE

Dr. Eduardo J. Tejada Sánchez



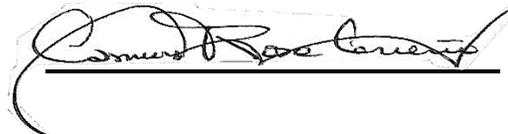
SECRETARIO

Ing. Ernesto A. Mendoza Yacarini



VOCAL

Dra. Carmen R. Carreño Farfán



ASESORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2022

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	10
II.	MARCO TEÓRICO	12
	2.1 Antecedentes de la investigación	12
	2.2 Base teórica.....	14
	2.2.1 Efecto del plomo en los seres vivos.....	15
	2.2.2 Fitorremediación	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
	3.1 Material biológico.....	22
	3.2 Población y muestra	22
	3.3 Métodos.....	22
	3.3.1 Variables	22
	3.3.2 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis	22
	3.3.3 Características físicas, químicas y microbiológicas del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019	24
	3.3.4 Identificación de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019	26
	3.3.5 Identificación de las características que evidencian <i>in vitro</i> promoción de crecimiento vegetal en bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019.....	27
	3.3.6 Influencia de los consorcios de bacterias rizosféricas en el crecimiento de las malezas y fitotoxicidad del suelo fitorremediado	

3.3.7 Parámetros de la fitorremediación de plomo en el suelo con menor fitotoxicidad	30
3.3.8 Identificación fenotípica del género de las bacterias del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación	31
3.4 Análisis estadístico de los datos	31
IV. RESULTADOS	32
4.1 Características del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019.....	32
4.2 Malezas tolerantes al plomo identificadas, Lambayeque 2019	32
4.3 Características que evidencian <i>in vitro</i> promoción de crecimiento vegetal en las bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019	42
4.4 Influencia de los consorcios de bacterias rizosféricas en el crecimiento de las malezas y fitotoxicidad del suelo fitorremediado	47
4.5 Parámetros de la fitorremediación de plomo en el suelo con menor fitotoxicidad	47
4.6 Identificación fenotípica del género de bacterias del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación	51
V. DISCUSIÓN	52
VI. CONCLUSIONES.....	59
VII. RECOMENDACIONES	60
VIII. REFERENCIAS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características físicas y químicas del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019	33
Tabla 2. Malezas reportadas como tolerantes al plomo en artículos en las bases de datos Scopus y Google Scholar, 2007 - 2019	35
Tabla 3. Malezas reportadas como tolerantes al plomo, adaptadas al trasplante en el invernadero, Lambayeque 2019	36
Tabla 4. Índice de tolerancia al estrés por plomo en malezas tolerantes, Lambayeque 2019	41
Tabla 5. Crecimiento en diferentes concentraciones de plomo por bacterias rizosféricas de malezas, Lambayeque 2019	44
Tabla 6. Características de bacterias constituyentes de consorcio de la rizósfera de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019	45
Tabla 7. Fósforo solubilizado y ácido indol acético producido por bacterias constituyentes de consorcios rizosféricos de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019	46
Tabla 8. Biomasa fresca de malezas 90 días después de la inoculación de consorcios bacterianos tolerantes al plomo	48
Tabla 9. Nivel de fitotoxicidad del suelo en semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. 90 días después de la siembra de malezas con y sin consorcios de bacterias tolerantes al plomo	49
Tabla 10. Parámetros de la fitorremediación de suelo contaminado con plomo por <i>Echinochloa colonum</i> con y sin consorcio bacteriano.....	50
Tabla 11. Características diferenciales de los géneros <i>Pseudomonas</i> y <i>Acinetobacter</i> identificados en las bacterias constituyentes del consorcio 1 aisladas de <i>E. colonum</i> tolerante al Pb, Lambayeque 2020	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diseño completamente aleatorio para investigar la influencia de consorcios bacterianos en la fitorremediación de suelo contaminado con plomo	23
Figura 2. Ubicación del distrito de Reque en la Región Lambayeque, 2019	25
Figura 3. Lugar de recolección de suelo en el botadero de residuos sólidos, Reque 2019.....	25
Figura 4. Turbidez por el crecimiento de microorganismos totales de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019	34
Figura 5. Turbidez por el crecimiento de microorganismos tolerantes al plomo de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque, 2019.....	34
Figura 6. Quemadura en hojas de <i>Bidens pilosa</i> no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.....	37
Figura 7. Enrollamiento foliar en <i>Amaranthus viridis</i> no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.....	37
Figura 8. Clorosis en hojas de <i>Eleusine indica</i> no tolerante al Pb, Lambayeque 2019	38
Figura 9. Quemadura foliar en <i>Sonchus oleraceus</i> no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.....	38
Figura 10. Marchitez en <i>Amaranthus spinosus</i> no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.....	39
Figura 11. Plantas de <i>Echinochloa colonum</i> tolerantes al Pb, Lambayeque 2019.....	39
Figura 12. Plantas de <i>Cyperus corymbosus</i> tolerantes al Pb, Lambayeque 2019.....	40

Figura 13. Plantas de <i>Sorghum halepense</i> tolerantes al Pb, Lambayeque 2019	40
Figura 14. Porcentaje de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019	41
Figura 15. Colonias de bacterias rizosféricas de malezas tolerantes al plomo aisladas en agar nutritivo Lambayeque, 2019	43
Figura 16. Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas rizosféricas de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque, 2019.....	43

RESUMEN

El plomo (Pb) persiste en el suelo durante 1000 - 3000 años y es absorbido por especies vegetales comestibles, por lo que constituye un problema en la seguridad alimentaria. El objetivo de la investigación fue determinar el potencial de las malezas para la fitorremediación de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque, contaminado de forma artificial con Pb. En el suelo del botadero se determinaron las características físicas, químicas y microbiológicas, se identificaron las malezas tolerantes a 800 ppm Pb, se identificaron las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en las bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al Pb, se determinó la influencia de los consorcios de las bacterias rizosféricas en el crecimiento de tres malezas tolerantes al Pb y en la fitotoxicidad del suelo fitorremediado, se determinaron los parámetros de la fitorremediación de Pb en el suelo con menor fitotoxicidad y se identificó el género de las bacterias del consorcio bacteriano. El suelo del botadero presentó Cr, Pb, Cd, microorganismos totales y tolerantes al Pb. Las malezas *Echinochloa colonum*, *Cyperus corymbosus* y *Sorghum halepense* demostraron tolerancia al Pb. Las bacterias rizosféricas de las malezas tolerantes solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron ácido indol acético. Los consorcios de bacterias rizosféricas incrementaron (4,14-14,32 %) la biomasa fresca de las malezas tolerantes al Pb. El suelo donde se alcanzó el menor nivel de fitotoxicidad (bajo) fue el correspondiente a *E. colonum* + consorcio bacteriano 1. Con este tratamiento el factor de bioacumulación en el follaje fue de 0,1650 y en las raíces fue de 1,0250, el factor de translocación de 0,1611 y se alcanzó 78,83 % de remoción de Pb. Se demostró la mayor eficiencia en la remediación del suelo contaminado con Pb por *E. colonum* con el consorcio bacteriano.

Palabras clave: plomo, consorcios de bacterias, tolerancia al plomo, *Echinochloa colonum*, fitorremediación

ABSTRACT

Lead (Pb) persists for 1,000-3,000 years and is absorbed by edible plant species, which is why it constitutes a problem in food safety. The objective of the research was to determine the potential of weeds for soil phytoremediation of the municipal solid waste dump in Reque, Lambayeque, artificially contaminated with Pb. In the soil of the dump, the physical, chemical and microbiological characteristics were determined, the weeds tolerant to 800 ppm Pb were identified, the characteristics that show *in vitro* the promotion of plant growth in the rhizospheric bacteria constituting the consortia of weeds tolerant Pb were identified, The influence of rhizospheric bacteria consortia on the growth of three Pb-tolerant weeds and on the phytotoxicity of the phytoremediated soil was determined, the parameters of the phytoremediation of Pb in the soil with less phytotoxicity were determined and the genus of the bacteria of the bacterial consortium was identified. The dump soil presented Cr, Pb, Cd, total microorganisms and Pb tolerant. The weeds *Echinochloa colonum*, *Cyperus corymbosus* and *Sorghum halepense* showed tolerance to Pb. Rhizospheric bacteria from tolerant weeds solubilized tricalcium phosphate and produced indole acetic acid. The consortia of rhizospheric bacteria increased (4.14- 14.32 %) the fresh biomass of Pb-tolerant weeds. The soil where the lowest level of phytotoxicity (low) was reached was the one corresponding to *E. colonum* + bacterial consortium 1. With this treatment, the bioaccumulation factor in the foliage was 0.1650 and in the roots it was 1.0250, the translocation factor was 0.1611 and 78.83 % Pb removal was achieved. The greater efficiency in the remediation of soil contaminated with Pb by *E. colonum* with the bacterial consortium stands out.

Keywords: lead, consortia of bacteria, lead tolerance, *Echinochloa colonum*, phytoremediation

I. INTRODUCCIÓN

En promedio, más del 90 % de los contaminantes ambientales como los metales pesados son retenidos en las partículas de suelo. La contaminación por plomo (Pb) es significativa porque este metal pesado presenta un prolongado tiempo de residencia (Ruíz, 2013), persiste durante 1000 - 3000 años (Paiva, 2015) y es absorbido por especies vegetales comestibles como *Beta vulgaris* “acelga” y *Medicago sativa* “alfalfa”, condición que constituye un problema potencial en la seguridad alimentaria para humanos y animales (Coyago y Bonilla, 2016).

La exposición ambiental al Pb (1300 a 32260 mg kg⁻¹ en el suelo) afecta la salud pública a escala mundial (Covarrubias y Peña, 2017; Coyago y Bonilla, 2016; Ruíz, 2013; Pérez, 2008) y es causa de 143 000 muertes al año (Azcona et al., 2015). En el Perú se han reportado suelos contaminados con Pb en Puno: 18 mg kg⁻¹ (Argota et al., 2014), Cerro de Pasco y Junín: 71 a 702 mg kg⁻¹ (Chávez, 2014) y Trujillo: 3178 mg kg⁻¹ (Lizarbe et al., 2016) e inclusive se ha cuantificado Pb en la sangre de trabajadores de imprentas, mecánica automotriz y expendedores de gasolina (26 a 46 mg/dL), lo que evidencia un peligro inminente de toxicidad por Pb o saturnismo (Acaro et al., 2014).

La fitorremediación es una tecnología en la que se utilizan las plantas y los microorganismos asociados a la rizósfera para la remoción, transferencia, estabilización, degradación y neutralización de los compuestos nocivos para el suelo y cuerpos de agua (Ruíz, 2013). Diversas investigaciones sobre fitorremediación (Lu et al., 2021; Contreras et al., 2016) han demostrado la disminución del Pb en los suelos contaminados; sin embargo, en algunos casos las concentraciones remanentes superan los límites máximos permisibles establecidos por las normas legales para considerar un suelo biorremediado (Ruíz, 2013). Las malezas son de crecimiento rápido y pueden utilizarse para la fitorremediación de suelos contaminados con Pb (Contreras et al., 2016); no obstante, previo a su utilización se requiere investigar su capacidad para la disminución del contaminante, así como también, deben ser caracterizados los microorganismos rizosféricos de estas malezas, con la perspectiva de superar las limitaciones que afectan el proceso.

Por lo expuesto, se ejecutó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial de las malezas en la fitorremediación de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque contaminado con plomo? La hipótesis fue: Las malezas tienen potencial para la fitorremediación de plomo y disminuyen más de 50 % de la concentración del metal en el suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque contaminado.

El objetivo general fue: Determinar el potencial de las malezas para la fitorremediación de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque, contaminado con plomo. Los objetivos específicos fueron: Identificar las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque; seleccionar las malezas tolerantes al plomo; identificar las características que evidencian *in vitro* promoción decrecimiento vegetal en las bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al Pb; comparar la influencia de los consorcios de bacterias rizosféricas en el crecimiento de las malezas y fitotoxicidad del suelo fitorremediado, comparar los parámetros de la fitorremediación de Pb con y sin consorcios bacterianos en el suelo con menor fitotoxicidad e identificar el género de las bacterias del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Lu et al. (2021) investigaron el potencial de *Artemisia capillaris*, *Taraxacum mongolicum*, *Medicago sativa* y *Plantago asiatica* para la biorremediación de suelos contaminados con Pb (2, 3 y 5 % v/v). El suelo se distribuyó en macetas (2,5 kg). Las semillas pre-germinadas se sembraron en las macetas y transcurridos 90 días se cuantificó el contenido de Pb en las raíces, follaje y suelo. Se determinó que la acumulación de Pb en las plantas (raíces y follaje) aumentó conforme la concentración de Pb en el suelo. El rango en el factor de bioacumulación (BAC) fue de 0,061-1,430 en las raíces y 0,025-0,248 en el follaje de las plantas investigadas. Los mayores valores en el BAC correspondieron a *P. asiatica* en las raíces y *T. Mongolicum* en el follaje. La tasa de remoción de Pb fue de 26,25 % con *A. capillaris* y 13,01 % con *T. mongolicum*. Se concluyó que *A. capillaris* presentó el mayor potencial para la remoción del Pb en los ambientes contaminados.

Almasi et al. (2021) investigaron el potencial fitorremediador de *Echinochloa crus galli* e *Hibiscus cannabinus* en la biorremediación de lodos residuales de dos municipalidades. El ensayo se realizó bajo un diseño de bloques aleatorios. El lodo previamente deshidratado se mezcló con el suelo de las parcelas donde se sembraron las plantas investigadas. En el periodo de 1-75 días (*E. crus galli*) y 1-120 días (*H. cannabinus*) se cuantificó el Pb y Cd. El lodo residual de Kermanshah presentó Pb (5,21-5,49 mg kg⁻¹) y Cd (0,0064-0,08 mg kg⁻¹) y el lodo residual de Sarpol presentó 3,78-4,00 mg kg⁻¹ y 1,70-1,98 mg kg⁻¹ respectivamente. A los 75 días la eficiencia de *E. crus galli* fue de 62,2 % para la remoción de Pb y 100 % para el Cd. A los 120 días la eficiencia de *H. cannabinus* fue de 58 % para la remoción de Pb y 90 % para el Cd. Se concluyó que *E. crus galli* y *H.cannabinus* pueden ser utilizados para la remoción de metales pesados de lodos residuales.

Contreras et al. (2016) investigaron el potencial de *Ambrosia ambrosioides*, para la remediación de suelo contaminado con Pb. Plantas (25 - 30 cm) se trasplantaron en vasos con 450 cm³ de perlita mineral lavada, se regaron con solución nutritiva de Hoagland modificada y se dejaron aclimatar durante 15 días. Después, fueron expuestas a tres soluciones de Pb (NO₃)₂ con 0,25 (T1); 0,5 (T2) y 1,5 g Pb L⁻¹ (T3). Transcurridos 20 días de exposición, las plantas se cosecharon y se cuantificó el Pb por espectrofotometría de absorción atómica. El Pb absorbido en la raíz en T3 fue de 4 638 mg kg⁻¹, tratamiento que superó a T2 con 416 mg kg⁻¹ y T1 con 263 mg kg⁻¹. Se demostró que *A. ambrosioides* es una planta hiperacumuladora de Pb que puede ser utilizada para la fitorremediación de suelo contaminado.

Argota et al. (2014) determinaron los coeficientes de fitorremediación en *Alopecurus magellanicus bracteatus* y *Muhlenbergia angustata* en suelos contaminados con Pb y Cd. Los metales se analizaron mediante espectrometría por plasma acoplada y el potencial de fitorremediación se determinó mediante los coeficientes de absorción biológica (BAC), factor de translocación (BT) y factor de remediación (RC). En conjunto se observaron diferencias en las raíces, hojas, BT y RC entre el Pb y Cd de ambas especies de plantas. No se observaron diferencias en el BAC ni en el contenido de metales en raíces y hojas de ambas especies vegetales. El potencial de fitorremediación fue bajo y se concluyó que las plantas investigadas no se pueden utilizar para la remediación de suelos contaminados con Pb o con Cd.

Ortega (2009) investigó la capacidad fitorremediadora de Pb por *Nicotiana glauca* en un suelo contaminado con Pb, Cd y As por una empresa fundidora de metales pesados. El suelo contaminado (60 %) se mezcló con arena de río (40 %) y se depositó en bolsas de polietileno de baja densidad de 10 kg de capacidad. Se trasplantaron plántulas con cinco a seis hojas y se determinaron las concentraciones de los metales en el suelo (0 y 120 días) y tejido vegetal (30, 60, 90 y 120 días después del trasplante). El contenido inicial de Pb en el suelo fue de 12000 mg kg⁻¹ y el final de 9832 mg kg⁻¹, con una disminución de 21,8 % del contaminante Pb. Para el Cd la disminución fue de 89,2 % y para el As 83,6 %. En los tejidos vegetales se cuantificó el Pb: 281 mg kg⁻¹ en las raíces, 41 mg kg⁻¹ en los tallos y 34 mg kg⁻¹ en las hojas. La concentración de los metales disminuyó en el suelo por efecto de la fitorremediación;

no obstante, a excepción del Cd, no se alcanzaron los niveles establecidos por las normas legales para considerar el suelo rehabilitado.

2.2 Base teórica

El término metal pesado se refiere a metales y metaloides tóxicos con una densidad atómica mayor de 6 g cm^{-3} . Los metales pesados agrupan los elementos esenciales cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), manganeso (Mn) y zinc (Zn) y los elementos no esenciales plomo (Pb), mercurio (Hg) y cadmio (Cd). Los metales pesados no son biodegradables y se acumulan en el ambiente o en el tejido de los seres vivos (bioacumulación). Asimismo, su concentración se incrementa, conforme pasan a través de la cadena trófica, en el proceso de biomagnificación (Pinto et al., 2015).

El Pb es un metal pesado natural de la corteza terrestre ubicado en el periodo 6 y grupo IV A de la tabla periódica, con el número atómico 82; peso atómico de 207,2; punto de ebullición de 1725 °C , punto de fusión $327,4 \text{ °C}$ y densidad de $11,4 \text{ g mL}^{-1}$. Es un metal de color gris, no elástico, con muy buena maleabilidad, resistente a la corrosión, dúctil, baja conductividad y bajo punto de fusión (Rodríguez et al., 2016), con estados de oxidación 4 y 2. El Pb al igual que la mayoría de metales se encuentra en forma aislada o combinado en forma de minerales (galena, cerusita, anglesita, cromatos y arseniatos (Molina et al., 2010).

Los ambientes se pueden contaminar con formas orgánicas e inorgánicas de Pb. El suelo es impactado con Pb por los residuos de pinturas y barnices, gasolina, baterías de vehículos, proyectiles, soldaduras y revestimiento de cables (Rodríguez et al., 2016). El agua se contamina por las aguas residuales industriales que llevan los efluentes con Pb y las cañerías también pueden liberar Pb. En el aire el Pb se encuentra como haluros, óxidos, sulfuros, sulfatos y carbonatos de Pb, con predominancia de los sulfatos (Salas et al., 2019). En el suelo también se encuentran estas formas que interaccionan con la materia orgánica y coloides inorgánicos; no obstante, cuando el pH disminuye, se reduce la interacción y el Pb se moviliza (Rodríguez et al., 2016). En suelos cultivados ubicados cerca de fábricas industriales

se ha cuantificado hasta 360 mg Pb Kg⁻¹ y en campos no cultivados 8-20 mg Pb kg⁻¹(Salas et al., 2019).

Las formas más estables de Pb son el Pb²⁺ y los complejos hidroxilados de Pb. El Pb²⁺ es la forma más común y reactiva que forma óxidos e hidróxidos. En el agua y suelo se encuentra Pb iónico (Pb²⁺), óxidos e hidróxidos de Pb y complejos oxianiónicos de Pb metálico. En el suelo el Pb se encuentra como plomo iónico (ejemplo Pb II en la forma de PbSO₄), óxidos e hidróxidos y complejos oxianiónicos de Pb. La fracción biodisponible de Pb en el suelo es la ácido – soluble y es investigada mediante tres grupos de extractantes a) soluciones diluidas de ácidos fuertes (HCl, HNO₃), ácido acético y cloruro de calcio acidificado, b) solución de agentes quelantes, mezclas de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y solución de sales neutrales (MgCl₂) y soluciones neutrales de sales y agua bidestilada (Rigoletto et al., 2020).

2.2.1 Efecto del plomo en los seres vivos

El Pb carece de funciones en los seres vivos y cuando se encuentra en los organismos la contaminación procede de fuentes externas como la ocupacional, ambiental y doméstica. La primera fuente se refiere a los centros de metalurgia, trabajos de fundición y refinado, minería de extracción, labores de plomería y soldadura, producción de cerámicas, pinturas, municiones, caucho, vidrios, plásticos y baterías. En la exposición ambiental el Pb se encuentra en el mar, ríos, suelo y atmósfera y en la exposición doméstica las fuentes de contaminación son la pintura (paredes, juguetes), utensilios de cerámica, agua, alimentos e incluso leche materna. Se ha cuantificado Pb (0,13 – 446 ppm) en el agua de riego contaminada con residuos industriales o restos de fertilizantes, en los vegetales de consumo en fresco, fresas, papas, yuca, jugo de caña de azúcar y jugos industriales de naranja, guayaba, toronja, piña y tomate (Salas et al., 2019). El Pb ingresa al organismo por vías respiratoria, digestiva y dérmica (Rodríguez et al., 2016).

El Pb se une a las proteínas (grupos sulfhidrido), compite con otros metales por el sitio de unión y altera la estructura y función de las moléculas proteicas. El Pb es químicamente similar al calcio y activa la proteína C quinasa (dependiente del Ca), que está vinculada con el crecimiento y diferenciación celular. Niveles bajos de Pb en

la sangre reducen la vitamina D, ocasionan deficiencia en el metabolismo de medicamentos por el hígado, interfieren con la síntesis del grupo hem y un nivel de 50 ug/dL en la sangre (NPS) produce anemia. La intoxicación aguda por Pb causa anorexia, irritabilidad, alteración del sueño, dolor abdominal, vómito. En intoxicaciones crónicas se observan las "líneas" de Pb en las encías, las "líneas de detención del crecimiento" en el esqueleto y el característico punteado basófilo en los eritrocitos. Cuando el NPS es igual o más de 100 ug dL⁻¹ se produce encefalopatía con vómito, ataxia, coma y convulsiones. La intoxicación con bajos niveles de Pb (NPS 10 - 20 ug dL⁻¹) se asocia a disminución del coeficiente intelectual (Matte, 2003).

El Pb afecta el sistema nervioso central además de los elementos sanguíneos, riñones, aparato reproductor, sistema cardiovascular y la mayor parte se inmoviliza en los huesos y dientes. La neurotoxicidad es mayor en el feto en desarrollo y en los niños en crecimiento. El Pb causa efecto tóxico cuando se encuentra en la sangre de los niños (5 ug dL⁻¹) y de los adultos (10 ug dL⁻¹). Una vez que ingresa al organismo el Pb es transportado por la hemoglobina de los glóbulos rojos, se distribuye en los riñones, hígado, cerebro y en promedio el 70-95 % se deposita en los huesos donde permanece por 25 años o más (Salas et al., 2019).

El Pb altera la estructura de los cloroplastos e induce daño en la membrana celular, inhibición de la fotosíntesis y actividad enzimática, deficiencia en la nutrición mineral, desbalance hídrico e inhibición de la elongación radicular. El Pb induce síntomas visibles como clorosis, necrosis, disminución del crecimiento de raíces y follaje y cambia los patrones de ramificación de las raíces (Nakbanpote et al., 2016). El Pb no es esencial para las plantas y no presenta alguna función biológica, pero es transportado a los tejidos vegetales. Una vez dentro, el Pb incrementa la producción de formas reactivas de oxígeno (ROS) que afectan las membranas celulares lipídicas y reducen la actividad fotosintética. Como consecuencia, el crecimiento se reduce y la biomasa vegetal disminuye en forma significativa. La retención de Pb en las raíces es consecuencia de la adhesión del metal a los sitios de intercambio de iones o de la precipitación extracelular (carbonato de Pb), en ambos casos en la pared celular (Rigoletto et al., 2020).

Las plantas muestran sensibilidad o resistencia a los metales pesados. Las plantas sensibles son afectadas en forma drástica y pueden morir. Las plantas resistentes presentan mecanismos como la evasión y la tolerancia, que les permiten sobrevivir con alta concentración de metales pesados. En la evasión las células radiculares limitan y restringen la absorción y el movimiento de los metales pesados en los tejidos vegetales mediante los mecanismos de absorción radicular, precipitación de los metales y exclusión. La absorción radicular involucra la inmovilización del metal. Los exudados de las raíces actúan como ligandos de los metales pesados para formar complejos metabólicos en la rizósfera tal que se disminuye la biodisponibilidad y letalidad del metal pesado. Las barreras de exclusión entre las raíces y el follaje minimizan la accesibilidad de los metales presentes en el suelo hacia las raíces (Sabreena et al., 2022; Gupta et al., 2013).

La tolerancia de las plantas se observa cuando el metal pesado ingresa en el citosol celular y se genera la inactivación, la quelación y la compartimentalización. En la quelación la concentración del metal pesado es reducida por ligandos orgánicos e inorgánicos en el citoplasma. Después de la quelación los complejos metal-ligandos son transferidos del citosol hacia compartimentos inactivos como las vacuolas, donde son almacenados sin ocasionar toxicidad. Cuando los mecanismos no son adecuados para disminuir la toxicidad en las plantas se forman las especies reactivas de oxígeno (ROS) en el citoplasma, que causan estrés oxidativo. En este contexto, las plantas activan los mecanismos de defensa antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para superar el efecto negativo de ROS (Sabreena et al., 2022).

En ambientes contaminados por metales, la primera estrategia de las plantas es evitar la entrada a las células por exclusión o adhesión del contaminante en la pared celular. El segundo mecanismo es evitar el daño oxidativo provocado por ROS mediante antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en los diferentes compartimentos sub-celulares. Una vez adsorbido el Pb en la superficie de las raíces puede ingresar de manera pasiva y luego translocarse junto con el agua. La mayoría del Pb absorbido por las raíces es retenido a nivel superficial para prevenir el transporte a los tejidos vasculares mediante el xilema y la creciente translocación hacia el follaje. La compartimentalización del metal es un mecanismo importante de

detoxificación. El Pb se localiza principalmente en las paredes celulares, espacios intercelulares y vacuolas. Las fitoquelatinas son los péptidos responsables de la adhesión de metales tóxicos en las plantas y desempeñan un importante rol en la detoxificación (Gupta et al., 2013).

2.2.2 Fitorremediación

La fitorremediación es una técnica que remueve los metales pesados del ambiente. Se fundamenta en la capacidad de las plantas para extraer los metales pesados del suelo y agua y bioacumularlos en la raíz, hojas, tallos, flores o frutos sin algún efecto negativo en la estructura, fertilidad y actividad biológica del suelo. La fitorremediación también se define como el uso de plantas y microorganismos asociados para reducir los contaminantes del agua, suelo y aire. La fitorremediación no contamina el ambiente y puede ser usada para extraer o inmovilizar metales, metaloides y radionucleótidos, así como también xenobióticos orgánicos (Rigoletto et al., 2020; Sabreena et al., 2022).

Las técnicas de fitorremediación son la fitoestabilización, fitoextracción, fitovolatilización y rizofiltración. La fitoestabilización es la disminución de la movilidad de los metales pesados por las plantas mediante la fijación de estos contaminantes en el suelo rizosférico o en las raíces. Los metales son inmovilizados por absorción a la superficie de las raíces, formación de complejos con los ácidos orgánicos de las raíces, precipitación en formas ligeramente solubles (complejos metálicos, carbonatos, sulfuros) y acumulación en el tejido radicular (adsorción, complejación y coprecipitación). Algunos metales como el Cr son reducidos (cromo hexavalente a cromo trivalente menos tóxico). De esta manera, se reduce el movimiento del contaminante, se evita la contaminación del agua subterránea y se previene la biomagnificación. La fitoestabilización permite que las plantas exclusoras se encuentren en los ambientes contaminados y mantengan bajas concentraciones de los metales pesados en el follaje. Estos contaminantes se restringen al suelo rizosférico o a las raíces (Sabreena et al., 2022; Rigoletto et al., 2020).

La fitoextracción es el proceso mediante el cual los metales pesados son removidos por las plantas. El metal contaminante del suelo pasa a la parte cosechable

de las raíces o la biomasa aérea. Estas plantas generalmente son hiperacumuladoras, crecen de forma muy rápida y producen abundante biomasa. Los metales son absorbidos por las raíces y son transportados al follaje de las plantas. Las plantas hiperacumuladoras presentan una elevada concentración de metales en sus tejidos. Las plantas son calificadas como hiperacumuladoras cuando acumulan en las raíces más de 100 mg Cd kg⁻¹ biomasa seca o más de 1000 mg kg⁻¹ biomasa seca de Ni, Cu o Pb o más de 10 000 mg kg⁻¹ biomasa seca de Zn o Mn. Especies de las familias *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* y *Scrophulariaceae* son reconocidas como buenas acumuladoras de metales (Sabreena et al., 2022).

Las vacuolas son el principal lugar donde los metales en su mayoría en forma de óxidos son acumulados, pero también se encuentran en la pared celular y vesículas mucilaginosas. La quelación de los metales o ligandos orgánicos (ácidos, aminoácidos, polipéptidos, péptidos) es responsable de la protección de los sitios activos en el citosol de las células. En ausencia de la quelación en las plantas expuestas a metales pesados se forman especies reactivas de oxígeno y radicales libres que oxidan los aminoácidos, proteínas y alteran la fluidez de la membrana celular (Pinto et al., 2015).

En la fitovolatilización, los metales absorbidos por las plantas son transformados y translocados al follaje como formas menos tóxicas y volátiles que son liberados a la atmósfera (transpiración). En este proceso un grupo de metales pesados y metaloides (As, Hg, Se) son asimilados a compuestos orgánicos con cierta volatilidad. La desventaja es que se pueden liberar productos tóxicos a la atmósfera. La rizofiltración es un mecanismo de algunas plantas acuáticas y plantas terrestres capaces de absorber grandes cantidades de agua a partir del suelo. De esta manera, se favorece la precipitación de metales pesados como el Cd, Cr, Cu, Pb, Ni y Zn en la superficie de las raíces o la absorción por las raíces de los contaminantes solubles de una solución alrededor de la rizósfera (Sabreena et al., 2022).

Las técnicas de fitorremediación pueden ser clasificadas con base al mecanismo que involucra la remoción del contaminante. En la fitoextracción el metal es llevado desde el suelo hacia los tejidos vegetales. En la fitoestabilización las raíces de las plantas reducen la biodisponibilidad del contaminante en el suelo. En la fitodegradación, las plantas son capaces de degradar contaminantes orgánicos. En la fitovolatilización el contaminante es absorbido, translocado y luego transformado a compuestos volátiles y en la rizofiltración las raíces de las plantas adsorben y absorben los contaminantes desde el agua contaminada (Rigoletto et al., 2020).

El factor de bioacumulación (BAC) o bioaccumulation factor (BCF) determina el nivel de acumulación de metales y se calcula al dividir la concentración del contaminante en el tejido del follaje o parte aérea (FBA-A) o en el tejido de las raíces (FBA-R) entre la concentración inicial del metal en el suelo. El factor de translocación (TF) se refiere a la tasa de movilización y determina el movimiento del metal desde la raíz hacia el follaje de la planta. El TF determina la eficacia de la planta para el transporte del metal desde la raíz hacia el follaje y se calcula al dividir la concentración del metal en el follaje entre la concentración del metal en las raíces. El porcentaje de remoción del metal en el suelo se calcula al dividir la resta de la concentración inicial menos la concentración final en el suelo entre la concentración inicial (Lu et al., 2021).

$$\text{BAC-A} = \frac{\text{Pb follaje}}{\text{Pb inicial suelo}} \quad \text{BAC-R} = \frac{\text{Pb raíces}}{\text{Pb inicial suelo}}$$

$$\text{TF} = \frac{\text{Pb follaje}}{\text{Pb raíces}}$$

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{\text{Pb inicial} - \text{Pb final suelo}}{\text{Pb inicial suelo}}$$

La tolerancia de las plantas a elevadas concentraciones de metales pesados depende del tipo de planta. Las acumuladoras concentran el metal en el follaje de la planta. Las plantas indicadoras regulan la absorción y transporte de los metales tal que la concentración interna refleja la concentración externa. Las plantas excluyentes acumulan el metal pesado en las raíces, pero la entrada y transporte a la parte aérea son limitados. Cuando el $BAC < 1$ la planta es excluyente, $1 \leq BAC < 10$ la planta es acumuladora y $BAC \geq 10$ la planta es hiperacumuladora (Baker, citado por Luna, 2018). Un valor del $TF > 1$ indica que la planta transloca el metal desde las raíces hacia el follaje es decir es fitoextractora y un $TF < 1$ indica que la planta no transloca el metal y éste es acumulado mediante inmovilización en las raíces (Rigoletto et al., 2020), es decir que la planta es fitoestabilizadora. Plantas con $BAC > 1$ y $TF > 1$ son adecuadas para la fitoextracción. Plantas con $BAC > 1$ y $TF < 1$ son apropiadas para la fitoestabilización (Rigoletto et al., 2020).

La fitorremediación puede ser mejorada con estrategias que favorecen y aceleran el proceso, como la sinergia entre plantas y microorganismos promotores de crecimiento en plantas (PGPR), adición de agentes quelantes, enmiendas y uso de quelantes transgénicos entre otras. Las PGPR disminuyen el estrés de las plantas en los ambientes contaminados, mediante el cambio del estado de oxidación de metales como el Cr, solubilización de fosfatos, producción de cianuro de hidrógeno, auxinas, sideróforos, amonio y fijación de nitrógeno. La acción de PGPR es directa cuando reducen el efecto tóxico del contaminante y es indirecta cuando producen fitohormonas como las auxinas que favorecen la inducción y proliferación del sistema radicular, citoquininas relacionadas con el crecimiento celular, regulan hormonas como el etileno, fijan nitrógeno, solubilizan fosfato y producen sideróforos y amonio (Gavrilescu, 2022). Los microorganismos asociados con las plantas modifican la biodisponibilidad del Pb mediante la producción de sideróforos, ácidos orgánicos, exopolisacáridos y solubilización de fosfatos precipitados (Shah y Daverey, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material biológico

Suelo colectado en el botadero de residuos sólidos municipales de Reque, malezas provenientes de campos cultivados, cascarilla de *Oryza sativa* L “arroz” y bacterias rizosféricas de las malezas tolerantes al Pb.

3.2 Población y muestra

En la investigación descriptiva la población correspondió a las malezas reportadas como tolerantes al Pb en las publicaciones científicas 2007 – 2019 de las bases de datos Scopus y Google Scholar y la muestra no probabilística y por conveniencia correspondió a 15 especies de malezas. En la investigación explicativa la población y muestra de estudio no probabilísticas y por conveniencia fueron 36 plantas de tres especies de malezas las cuales se distribuyeron en seis tratamientos, tres repeticiones y dos plantas por repetición.

3.3 Métodos

3.3.1 Variables

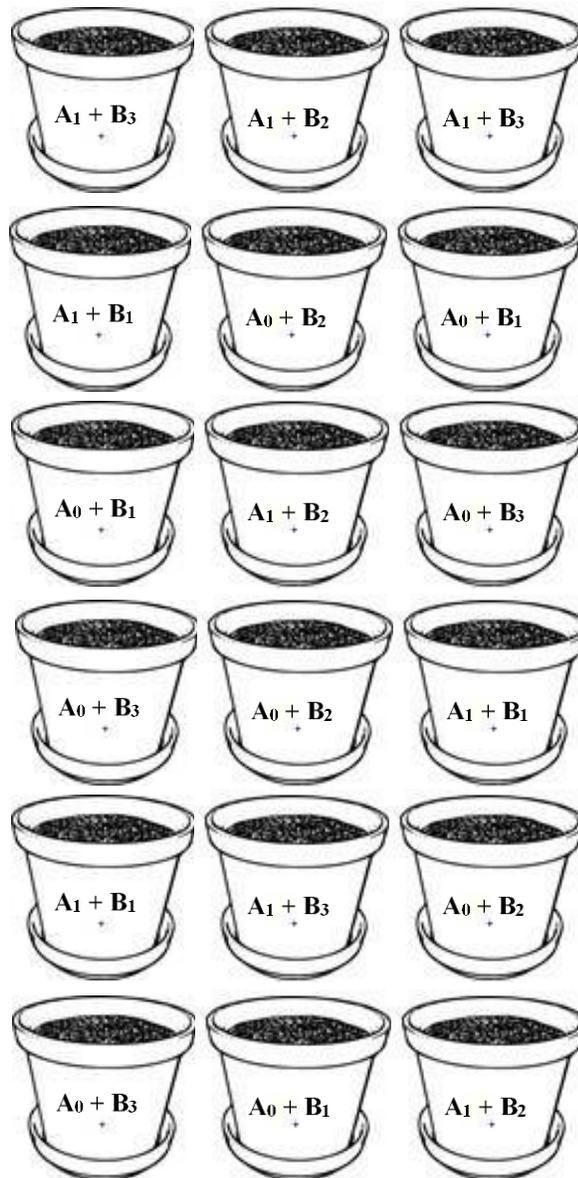
En la fase descriptiva de la investigación la variable cuantitativa fue el crecimiento de las malezas (biomasa fresca, índice de tolerancia al estrés). En la fase explicativa las variables independientes fueron dos: consorcios bacterianos (sin y con consorcios bacterianos) y especies de malezas (tres). La variable dependiente fue la biomasa aérea de las malezas y la fitotoxicidad del suelo fitorremediado.

3.3.2 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

En la investigación explicativa la hipótesis se contrastó con el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández et al., 2014), con arreglo factorial 2x3. El factor A fue el consorcio bacteriano (sin y con consorcios bacterianos: A₀, A₁) y el factor B las especies de malezas (B₁, B₂, B₃), tres repeticiones por tratamiento y 18 unidades experimentales (Figura 1).

Figura 1

Diseño completamente aleatorio para investigar la influencia de consorcios bacterianos en la fitorremediación de suelo contaminado con plomo.



A₀ = Sin consorcios bacterianos

A₁ = Con consorcios bacterianos

B₁ = Maleza 1

B₂ = Maleza 2

B₃ = Maleza 3

3.3.3 Características del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019

El botadero de residuos sólidos municipales de Reque, en la provincia de Chiclayo (Figuras 2, 3) abarca una superficie de 2,95 km² (Google Earth, 2019) y está comprendido entre los paralelos 06° 55´ 04´´ latitud sur y 79° 44´ 07´´ longitud oeste (Google Earth, 2019). El muestreo fue de "Identificación" (MI), orientado a identificar si el suelo estaba contaminado. En un área de 1 ha (0-10 cm de profundidad) se colectaron nueve submuestras superficiales, el patrón de muestreo fue de distribución aleatoria con rejillas regulares, para lo cual se delimitaron nueve rejillas o celdas (333,5 m²) con líneas paralelas y perpendiculares (MINAM, 2014).

En cuadrados de 1m² delimitados en la parte central de cada celda se colectó el suelo. Se retiraron los 2 cm de suelo superficial, en cada cuadrado se colectaron 24 kg de suelo (10 cm de profundidad) se depositaron en sacos de yute y se trasladaron al invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas en Lambayeque. El suelo de los nueve sacos se mezcló sobre una manta, se homogenizó mediante el método de "cuarteo y amontonamiento" (Contreras y Carreño, 2018) y se colectaron dos muestras (2 y 1 kg) representativas. La muestra de 2 kg se envió a Lima para el análisis físico, químico y de metales pesados en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina y la muestra de 1 kg se utilizó para el análisis microbiológico. El resto del suelo se mantuvo en el invernadero, para la fase experimental de la investigación.

El recuento de microorganismos totales mediante la técnica del número más probable (NMP), se realizó con 10 g de suelo que se diluyeron hasta 10⁻⁷ y 1 mL de las tres últimas diluciones se inocularon por triplicado en 10 mL de caldo nutritivo. Para determinar el NMP de microorganismos tolerantes al Pb, 1 mL de las diluciones 10⁻¹ a 10⁻³ se inocularon por triplicado en 10 mL de caldo nutritivo con 50 mg Pb L⁻¹. Todos los tubos se incubaron a 30°C por 2 días (microorganismos totales) y 10 días (microorganismos tolerantes al Pb), se consideraron positivos aquellos tubos con turbidez y se realizó el cálculo correspondiente del NMP.

Figura 2

Ubicación del distrito de Reque en la Región Lambayeque, 2019
(<https://www.google.com/maps/d/viewer?mid=1TjjuM0efVsMrHAUEAKCOyoetkok&ie=UTF8&hl=es&t=h&msa=0&ll=-6.831905012294494%2C-79.79310033300781&spn=0.014913%2C0.018239&z=11&source=embed>)

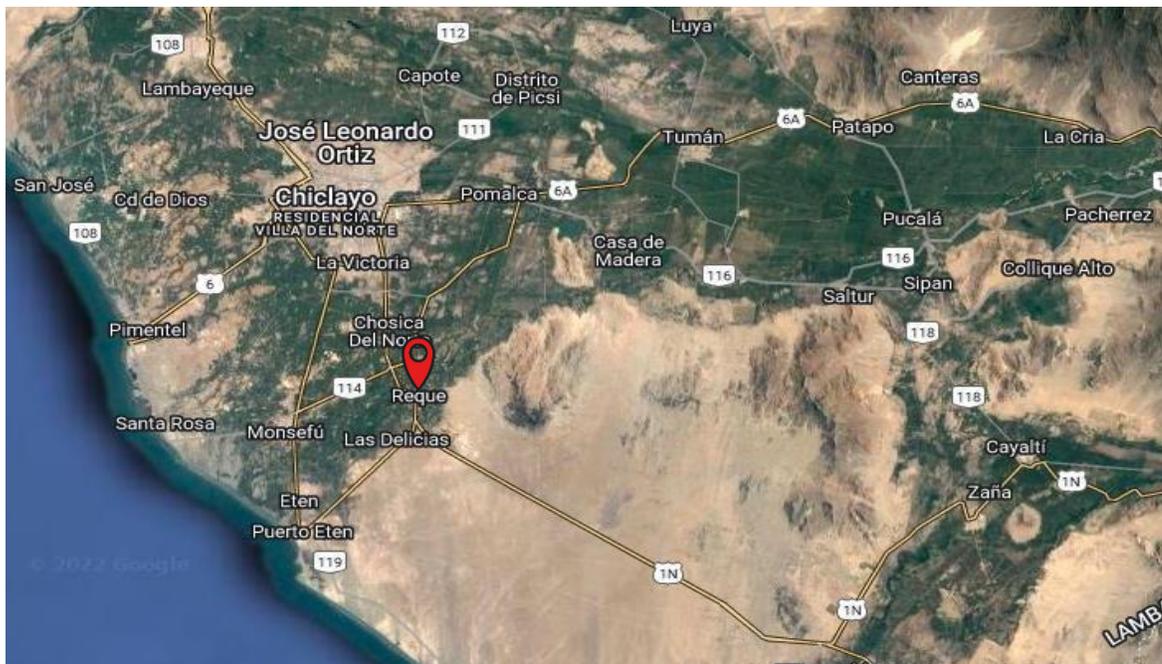


Figura 3

Lugar de recolección de suelo en el botadero de residuos sólidos municipales, Reque 2019



3.3.4 Selección de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

En las bases de datos Scopus y Google Scholar se buscaron artículos científicos relacionados con malezas tolerantes al Pb publicados durante 2007-2019. La búsqueda se realizó con las palabras clave “fitorremediación de plomo” “malezas tolerantes al plomo”, “lead phytoremediation” y “lead tolerant weeds”. Con la información analizada se obtuvo una relación de malezas tolerantes al Pb y con la ayuda de un especialista en Botánica se identificó la disponibilidad de 15 de las especies de malezas en seis campos agrícolas cultivados en los distritos de Illimo, Mochumí, Túcume, Cayanca, Reque y Monsefú en la Región Lambayeque.

En los campos agrícolas se identificaron las malezas presentes, se seleccionaron seis especímenes de cada maleza con similar altura y al inicio de la floración. Con una palana se extrajeron las plantas en las raíces y el suelo rizosférico, se acondicionaron en baldes de plástico de 4 kg de capacidad y se llevaron al invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas, donde se trasplantaron en macetas de polipropileno de 4 kg de capacidad con 3 kg del suelo del botadero de residuos municipales de Reque, mezclado con 0,300 kg de cascarilla de arroz.

En las macetas se sembraron dos especímenes de cada maleza (tres macetas por maleza) y se regaron con agua potable (almacenada por 24 horas) dos veces por semana. Las malezas fueron calificadas como adaptadas al trasplante cuando el vigor y el color verde se mantuvieron y desarrollaron hojas o brotes los siguientes 10 días. En las malezas adaptadas se investigó la tolerancia al Pb, por lo cual cuatro de las seis plantas se regaron con una solución de nitrato de plomo: $Pb(NO_3)_2$ en una concentración de 10 ppm Pb, por una vez la semana 1, dos veces la semana 2 y tres veces la semana 3. A partir de la semana 4 el riego se realizó cada 3 días con una solución de $Pb(NO_3)_2$ cuya concentración se incrementó en forma geométrica por 5 semanas: 50, 100, 200, 400 y 800 ppm Pb. Los dos especímenes de cada maleza restantes se regaron con agua sin Pb y constituyeron los testigos de referencia del fenotipo normal.

La tolerancia al Pb se calificó por la supervivencia del 100 % de las plantas y el aspecto físico similar al de los testigos, en cuanto a la altura, vigor y color de las

hojas. Transcurridos 60 días del primer riego con la solución de nitrato de plomo se pesó la biomasa de las plantas y se calculó el índice de tolerancia al estrés, TI (Chaturvedi et al, 2020):

$$\text{TI biomasa (\%)} = \frac{\text{Biomasa fresca de plantas tolerantes}}{\text{Biomasa fresca de plantas testigos}} \times 100$$

3.3.5 Identificación de las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

El suelo rizosférico (10 g) de las malezas tolerantes al Pb se inoculó en 100 mL de caldo nutritivo y se incubó a 30°C por 5 días (Gupta et al., 2017). Las bacterias se aislaron en agar nutritivo suplementado con 50 mg Pb L⁻¹, se incubaron a 30°C hasta por 5 días, las colonias desarrolladas se agruparon según sus características morfológicas (morfotipos) y reacción a la coloración de Gram, se seleccionó una representante de cada morfotipo y aquellas que crecieron (turbidez) en caldo nutritivo con 100, 200, 400 y 800 mg Pb L⁻¹, se cultivaron en agar nutritivo con y sin Pb, se incubaron a 30°C por 48 horas y constituyen los cultivos puros de bacterias tolerantes al plomo (Manzoor et al., 2019).

Las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento de plantas y que se investigaron en las bacterias tolerantes al plomo fueron la solubilización de fosfato (Escobar et al., 2011) y producción de ácido indol acético (García et al, 2010). La concentración de fósforo soluble se calculó con la ecuación:

$$X = \frac{Y - 0,0002}{0,07}$$

La concentración de ácido indol acético se calculó con la ecuación:

$$X = \frac{Y - 0,076}{0,004}$$

3.3.6 Influencia de los consorcios de bacterias rizosféricas en el crecimiento de las malezas y fitotoxicidad del suelo fitorremediado

El suelo (50 kg) previamente colectado en el botadero se tamizó (< 5 mm), se mezcló con 5 kg de cascarilla de arroz, se autoclavó a 121°C por 20 minutos (Chaturvedi et al., 2020) y se acondicionó en 18 macetas de polipropileno de 4 kg de capacidad, a razón de 3 kg por maceta. A continuación, el suelo de nueve macetas se contaminó en forma artificial en una solución de nitrato de plomo, Pb (NO₃)₂ hasta alcanzar 0,127 % p/p equivalente a 800 mg kg⁻¹ de Pb.

Transcurrido 1 mes de la contaminación del suelo con Pb las tres especies vegetales tolerantes al plomo provenientes de un almácigo de 30 días se trasplantaron por triplicado en macetas con el suelo contaminado y no contaminado con Pb (dos plantas por repetición). En los tratamientos donde se inocularon los consorcios bacterianos, antes del trasplante, las raíces de plantas de similar fenotipo se sumergieron en una suspensión del consorcio de bacterias correspondiente durante 30 minutos.

El inóculo de las bacterias se obtuvo por el método de siembra a gran escala, con dos volúmenes: madre y definitivo. Las bacterias se cultivaron de forma independiente en caldo nutritivo con 800 ppm Pb. El cultivo madre se obtuvo después de inocular 1,8 mL de caldo cultivado con cada bacteria con 16,2 mL de caldo nutritivo con 800 ppm Pb y se incubó a 30°C por 24 horas. El cultivo definitivo se obtuvo después de inocular el cultivo madre (18 mL) de cada bacteria en 162 mL de caldo nutritivo con 800 ppm Pb y se incubó a 30°C por 24 horas. De esta manera, se obtuvieron 180 mL de cultivo definitivo de cada bacteria y para los consorcios se mezclaron los cultivos definitivos de seis bacterias por maleza con un total de 1080 L (Acosta y Bustamante, 2020).

Debajo de las macetas se colocó un recipiente para coleccionar el líquido lixiviado. El riego se realizó cada 4 días y a los 90 días después del trasplante se pesó la biomasa aérea fresca de las plantas. La fitotoxicidad del suelo fitorremediado se determinó en las semillas de *Raphanus sativus* L. "rabanito" var. Crimson Giant. En placas de Petri se acondicionaron por triplicado 10 g de suelo de cada repetición de los seis tratamientos investigados, se humedecieron con agua destilada esterilizada y en cada placa se acondicionaron 25 semillas (18 placas de Petri). Se incluyeron cuatro placas de Petri con suelo no contaminado como testigo. Después de 120 horas a temperatura ambiente (20-22°C) se seleccionaron y cuantificaron las semillas germinadas, se midió la longitud de cada radícula y se calcularon los porcentajes de germinación relativa (PGR), crecimiento relativo de radícula (CRR) y el índice de germinación, IG (Lakhal et al., 2017):

$$\text{PGR (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas de rabanito germinadas en el suelo fitorremediado}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}} \times 100$$

$$\text{CRR (\%)} = \frac{\text{Longitud de la radícula de semillas de rabanito en el suelo fitorremediado}}{\text{Longitud de la radícula en el testigo}} \times 100$$

$$\text{IG (\%)} = \frac{\text{PGR} \times \text{CRR}}{100}$$

El nivel de fitotoxicidad se determinó al relacionar el IG con la presencia de sustancias tóxicas: $IG \geq 80\%$ muy baja cantidad de sustancias tóxicas con nivel bajo de toxicidad, $80\% > IG > 50\%$, moderada cantidad de sustancias tóxicas con nivel moderado de toxicidad, $IG \leq 50\%$, abundante cantidad de sustancias tóxicas con nivel severo de fitotoxicidad. El suelo y las malezas con y sin consorcios bacterianos, con los que se alcanzaron los menores niveles de toxicidad en las semillas de rabanito se colectaron para cuantificar el Pb y determinar los parámetros de fitorremediación.

3.3.7 Parámetros de la fitorremediación de plomo en el suelo con menor fitotoxicidad

Las raíces y el follaje de las malezas seleccionadas se lavaron y junto al suelo se deshidrataron en la estufa a 75°C durante 96 horas (Lu et al., 2021), se acondicionaron y enviaron al laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina en Lima para cuantificar el Pb mediante espectrofotometría de absorción atómica. Los valores del Pb cuantificado en el suelo, raíces y follaje se utilizaron para calcular el factor de bioacumulación (BAC), el factor de translocación (TF) y el porcentaje de remoción del Pb del suelo (Chaturvedi et al., 2020)

$$\text{BAC} = \frac{\text{Concentración de Pb en el follaje o en las raíces (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración inicial Pb en suelo (mg kg}^{-1}\text{)}}$$

$$\text{TF} = \frac{\text{Concentración de Pb en el follaje (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración de Pb en las raíces (mg kg}^{-1}\text{)}}$$

$$\text{Remoción (\%)} = \frac{\text{Concentración inicial Pb en el suelo} - \text{concentración final Pb en el suelo}}{\text{Concentración inicial Pb en el suelo}} \times 100$$

3.3.8 Identificación del género de las bacterias del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación

La identificación del género de las bacterias del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación se realizó mediante las pruebas de catalasa, oxidasa, motilidad, producción de acidez a partir de la glucosa en agar hierro triple azúcar (TSI), reducción de nitratos a nitritos, hidrólisis de la urea y el almidón, producción de indol, utilización de citrato, descarboxilación de la lisina en agar lisina hierro (LIA) e hidrólisis de la gelatina y esculina (Álvarez et al., 2014).

3.4 Análisis estadístico de los datos

Los valores obtenidos en la biomasa fresca de las malezas tolerantes al plomo se analizaron mediante las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene's) y se aplicó la estadística paramétrica mediante el programa Excel versión 2016.

IV. RESULTADOS

4.1 Características del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019

El suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque (Tabla 1), presentó una textura arenosa, condición no salina, niveles bajos de nitrógeno y fósforo, nivel medio de potasio y los metales pesados Cr (16,94 ppm), Pb (11,91 ppm) y Cd (1,12 ppm). Asimismo, en el suelo se cuantificaron $1,5 \times 10^6$ NMP/g de microorganismos totales y 28 NMP/g de microorganismos tolerantes al Pb (Figuras 4, 5).

4.2 Malezas tolerantes al plomo seleccionadas, Lambayeque 2019

En 13 artículos científicos revisados en las bases de datos Scopus y Google Scholar 2007-2019 se encontraron 26 malezas reportadas como tolerantes al Pb (Tabla 2), entre las que se seleccionaron 15 por su disponibilidad en la región de Lambayeque. Estas malezas se adaptaron al trasplante en el invernadero porque el vigor y el color verde persistieron y se observó desarrollo de hojas o brotes en el período de 10 días (Tabla 3).

Las malezas consideradas tolerantes al Pb (800 ppm) fueron aquellas que presentaron índices de tolerancia igual o mayores a 0,5 y correspondieron al 20% de las malezas investigadas. Las malezas seleccionadas como tolerantes al Pb fueron *Echinochloa colonum*, *Cyperus corymbosus* y *Sorghum halepense* con índices de tolerancia de 0,80; 0,76 y 0,72 % respectivamente (Figuras 6 a 14, tabla 4). El 80 % de las malezas investigadas se consideró no tolerante al Pb.

Tabla 1

*Características físicas y químicas del suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019**

Clase textural			pH	CE	Materia orgánica	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	CaCO ₃	Plomo	Cadmio	Cromo	
Arena	Limo	Arcilla	(1:1)	(1:1)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
(%)	(%)	(%)	dSm ⁻¹										
95	4	1	Arenoso	8,21	0,41	0,02	0,006	3,70	131,00	1,00	11,91	1,12	16,94

*Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía, UNALM

Equivalencias: 1ppm = 1 mg kg⁻¹; 1 dSm⁻¹ = 1 deciSiemens/metro = 1 mmho/cm

Figura 4

Turbidez por el crecimiento de microorganismos totales de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019.

**Figura 5**

Turbidez por el crecimiento de microorganismos tolerantes al plomo de suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque 2019.



Tabla 2

Malezas reportadas como tolerantes al plomo en artículos de las bases de datos Scopus y Google Scholar, 2007 – 2019

Autores	Año de Publicación	Malezas tolerantes al plomo	
		Nombre científico	Nombre común
Wu et al.	2007	<i>Amaranthus viridis</i> L.*	Amaranto verde
Wu et al.	2007	<i>Avena fatua</i> L.	Avena loca
Wu et al.	2007	<i>Eleusine indica</i> L.*	Pata de gallina
Wu et al.	2007	<i>Poa annua</i> L.	Espiguilla
Umaye y Osibanjo	2010	<i>Panicum maximum</i>	Pasto guinea
Umaye y Osibanjo	2010	<i>Chromolaena odorata</i>	Rompe saraguey
Salazar et al.	2014	<i>Bidens pilosa</i> L.*	Amor seco
Salazar et al.	2014	<i>Sorghum halepense</i> L.*	Sorgo de Alepo
Paiva et al.	2015	<i>Amaranthus spinosus</i> L.*	Atacú del Perú
Abu et al.	2016	<i>Eichhornia crassipes</i>	Jacinto de agua
Masood et al.	2017	<i>Cyperus rotundus</i> L.*	Coquito
Casierra et al.	2017	<i>Cyperus ligularis</i> L.*	Chiquita
Casierra et al.	2017	<i>Echinochloa colonum</i> L.*	Moco de pavo
Oyuela et al.	2017	<i>Sonchus oleraceus</i> L.*	Cerraja
Oyuela et al.	2017	<i>Chenopodium album</i> L.*	Cenizo
Oyuela et al.	2017	<i>Portulaca oleraceae</i> L.*	Verdolaga
Oyuela et al.	2017	<i>Cynodon dactylon</i> L.*	Gramma dulce
Chamorro et al.	2019	<i>Amaranthus blitum</i> L.*	Amaranto púrpura
Aimituma y Ferrua	2019	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	Kiwicha
Escobar et al.	2019	<i>Cyperus alternifolius</i> Rottb.	Junco
Escobar et al.	2019	<i>Arundo donax</i> L.	Carrizo
Escobar et al.	2019	<i>Leonotis nepetifolia</i> L.	Bola africana del rey
Amones y Barja	2019	<i>Amaranthus quitensis</i> Kunth.	Yuyo colorado
Amones y Barja	2019	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.*	Paico
Amones y Barja	2019	<i>Tagetes minuta</i> L.	Huacatay
Alcántara y Llatas	2019	<i>Cyperus corymbosus</i> L.*	Junco sombrero

*Plantas disponibles en los distritos de Illimo, Mochumí, Túcume, Reque, Callanca y Monsefú, 2019

Tabla 3

Malezas reportadas como tolerantes al plomo, adaptadas al trasplante en el invernadero, Lambayeque 2019

Nombre científico	Nombre común
<i>Sorghum halepense</i> L.	Sorgo de Alepo
<i>Echinochloa colonum</i> L.	Moco de pavo
<i>Cyperus corymbosus</i> L.	Junco sombrero
<i>Amaranthus viridis</i> L.	Amaranto verde
<i>A. spinosus</i> L.	Atacú del Perú
<i>A. blitum</i> L.	Amaranto púrpura
<i>Bidens pilosa</i> L.	Amor seco
<i>Portulaca oleraceae</i> L.	Verdolaga
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Paico
<i>Cynodon dactylon</i> L.	Gramma dulce
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Cerraja
<i>C. rotundus</i> L.	Coquito
<i>C. ligularis</i> L.	Chiquita
<i>Eleusine indica</i> L.	Pata de gallina
<i>Chenopodium album</i> L.	Cenizo

Figura 6

Quemadura en hojas de Bidens pilosa no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.

**Figura 7**

Enrollamiento de hojas en Amaranthus viridis no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.



Figura 8

Clorosis en hojas de Eleusine indica no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.

**Figura 9**

Quemadura foliar en Sonchus oleraceus no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.



Figura 10

Marchitez en Amaranthus spinosus no tolerante al Pb, Lambayeque 2019.

**Figura 11**

Plantas de Echinochloa colonum tolerantes al Pb, Lambayeque 2019.



Figura 12

Plantas de Cyperus corymbosus tolerantes al Pb, Lambayeque 2019.

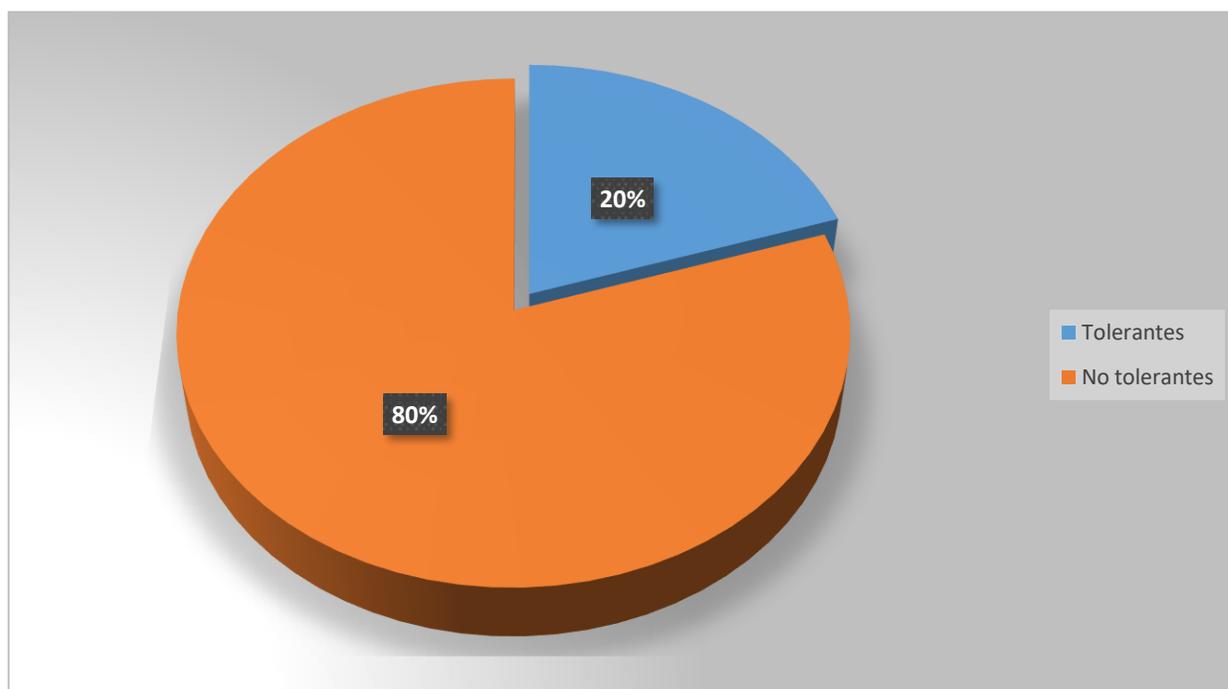
**Figura 13**

Plantas de Sorghum halepense tolerantes al Pb, Lambayeque 2019.



Figura 14

Porcentaje de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019.

**Tabla 4**

Índice de tolerancia al estrés por plomo en malezas tolerantes, Lambayeque 2019

Malezas		Biomasa fresca* (g)			Índice** de tolerancia (%)
Nombre científico	Nombre común	Suelo sin plomo	Suelo con plomo		
<i>Echinochloa colonum</i>	Moco de pavo	29,05	23,25	0,80	
<i>Cyperus corymbosus</i>	Junco sombrero	29,85	22,72	0,76	
<i>Sorghum halepense</i>	Sorgo de Alepo	39,15	28,47	0,72	

* Promedio de tres repeticiones

** Plantas sensibles (IT < 0,5), tolerantes (IT 0,5 - 0,8), altamente tolerantes (IT > 0,8)

4.3 Características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en las bacterias rizosféricas constituyentes de los consorcios de las malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

En la rizósfera de tres malezas tolerantes al Pb se aislaron 26 colonias de bacterias Gram negativas (76,9 %) y Gram positivas (23,1%), en agar nutritivo con 50 mg Pb L⁻¹, entre las que 92,3 % creció en caldo nutritivo con 100 y 200 mg Pb L⁻¹; 76,9 % en caldo con 400 mg Pb L⁻¹ y 50 % en caldo con 800 mg Pb L⁻¹ (Figuras 15, 16, tabla 5). En el suelo rizosférico de *E. colonum* se obtuvieron diez cultivos puros de bacterias y el 60% creció con 800 mg Pb L⁻¹. En el suelo rizosférico de *C. corymbosus* se obtuvieron siete cultivos puros de bacterias que crecieron con 400 mg Pb L⁻¹ y el 71,4 % con 800 mg Pb L⁻¹. En el suelo rizosférico de *S. halepense* se obtuvieron nueve cultivos puros de bacterias entre los que el 44,4 % creció en caldo con 400 mg Pb L⁻¹ y el 22,2 % en caldo con 800 mg Pb L⁻¹.

Los consorcios bacterianos (Tabla 6) se formularon con seis bacterias tolerantes a 800 mg Pb L⁻¹ (*E. colonum*), una tolerante a 400 mg Pb L⁻¹ y cinco a 800 mg Pb L⁻¹ (*C. corymbosus*), cuatro tolerantes a 400 mg Pb L⁻¹ y dos a 800 mg Pb L⁻¹ (*S. halepense*). Las bacterias tolerantes al Pb seleccionadas fueron Gram negativas (66,67 %) y Gram positivas (33,33 %). Las bacterias rizosféricas tolerantes al Pb de *E. colonum* fueron Gram negativas y de *C. corymbosus* y *S. halepense* Gram positivas (50 %) y Gram negativas (50 %).

Todas las bacterias constituyentes del consorcio 1 solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron ácido indol acético (AIA) y se cuantificaron 7,97–11,93 ppm de fósforo soluble y 51-69 ppm de AIA. El 50 % de las bacterias constituyentes del consorcio 2 solubilizaron fosfato y el 100 % produjo AIA. El 33,3 % de bacterias constituyentes del consorcio 3 solubilizaron fosfato y el 50 % produjo AIA (Tabla 7).

Figura 15

Colonias de bacterias rizosféricas de malezas tolerantes al plomo aisladas en agar nutritivo Lambayeque, 2019.

**Figura 16**

Porcentaje de bacterias Gram positivas y Gram negativas rizosféricas de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

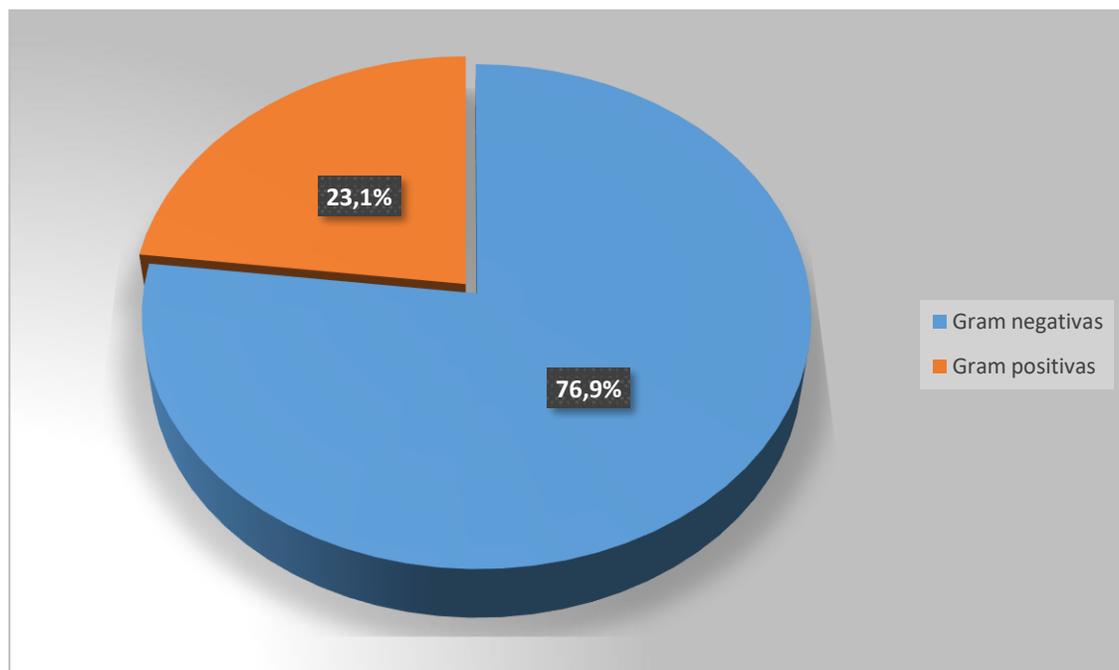


Tabla 5

Crecimiento en diferentes concentraciones de plomo por bacterias rizosféricas de malezas, Lambayeque 2019

Aislamientos bacterianos código	Maleza de procedencia	Turbidez por crecimiento bacteriano en diferentes concentraciones de Pb (mg L ⁻¹)				Coloración de Gram
		100	200	400	800	
1	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
2	<i>E. colonum</i>	-	-	-	-	-
3	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
4	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
5	<i>E. colonum</i>	+	+	+	-	-
6	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
7	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
8	<i>E. colonum</i>	+	+	+	-	-
9	<i>E. colonum</i>	+	+	+	+	-
10	<i>E. colonum</i>	+	+	+	-	-
<hr/>						
11	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	+	+
12	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	+	-
13	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	+	+
14	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	+	-
15	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	+	-
16	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	-	-
17	<i>C. corymbosus</i>	+	+	+	-	+
<hr/>						
18	<i>S. halepense</i>	+	+	-	-	-
19	<i>S. halepense</i>	+	+	-	-	-
20	<i>S. halepense</i>	+	+	+	+	-
21	<i>S. halepense</i>	-	-	-	-	-
22	<i>S. halepense</i>	+	+	-	-	-
23	<i>S. halepense</i>	+	+	-	-	-
24	<i>S. halepense</i>	+	+	+	+	+
25	<i>S. halepense</i>	+	+	+	-	-
26	<i>S. halepense</i>	+	+	+	-	+

Tabla 6

Características de bacterias constituyentes de consorcios de la rizósfera de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

Consortio (N°)	Maleza de procedencia	Bacterias (código)	Concentración de Pb en la que presenta tolerancia (mg L ⁻¹)	Coloración de Gram
1	<i>E. colonum</i>	1, 3	800	(-)
		4, 6	800	(-)
		7	800	(-)
		9	800	(-)
2	<i>C. corymbosus</i>	17	400	(+)
		11, 13	800	(+)
		12,	800	(-)
		14, 15	800	(-)
3	<i>S. halepense</i>	20, 25,	400	(+)
		24, 26	400	(-)
		20	800	(+)
		24	800	(+)

Tabla 7

Fósforo solubilizado y ácido indol acético producido por bacterias constituyentes de consorcios rizosféricos de malezas tolerantes al plomo, Lambayeque 2019

Consortio N°	Maleza de procedencia	Bacteria código	Fósforo soluble* (ppm)	Ácido indol acético* (ppm)
1	<i>E. colonum</i>	1	11,93	69,00
1	<i>E. colonum</i>	3	9,09	51,00
1	<i>E. colonum</i>	4	7,97	64,75
1	<i>E. colonum</i>	6	8,18	63,50
1	<i>E. colonum</i>	7	10,55	65,75
1	<i>E. colonum</i>	9	10,54	66,25
2	<i>C. corymbosus</i>	17	7,41	37,75
2	<i>C. corymbosus</i>	11	0	41,75
2	<i>C. corymbosus</i>	13	7,45	54,25
2	<i>C. corymbosus</i>	12	7,40	42,75
2	<i>C. corymbosus</i>	14	0	45,50
2	<i>C. corymbosus</i>	15	0	52,50
3	<i>S. halepense</i>	20	0	0
3	<i>S. halepense</i>	25	6,88	40,25
3	<i>S. halepense</i>	24	0	36,75
3	<i>S. halepense</i>	26	7,24	36,00
3	<i>S. halepense</i>	20	0	0
3	<i>S. halepense</i>	24	0	0

4.4 Influencia de los consorcios de bacterias rizosféricas en el crecimiento de las malezas y fitotoxicidad del suelo fitorremediado

Los consorcios de bacterias rizosféricas influenciaron de forma positiva en el crecimiento de las malezas tolerantes al Pb y transcurridos 90 días se observó 4,14-14,32 % de incremento en la biomasa fresca de las plantas inoculadas con los consorcios bacterianos en comparación con las no inoculadas. La prueba de comparación de medias de Tukey demostró que el mayor valor de la biomasa fresca correspondió al tratamiento *E. colonum* + consorcio bacteriano 1 con diferencias significativas frente a los otros tratamientos (Tabla 8).

El nivel de fitotoxicidad fue severo a moderado en el suelo donde crecieron las malezas tolerantes al Pb por 90 días y fue moderado a bajo en el suelo con las malezas tolerantes al Pb inoculadas con los consorcios bacterianos. El suelo donde se alcanzó el mayor índice de germinación de las semillas de rabanito (89,56 %) y por tanto el menor nivel de fitotoxicidad (bajo) fue el correspondiente a *E. colonum* + consorcio bacteriano 1 (Tabla 9).

4.5 Parámetros de la fitorremediación de plomo en el suelo con menor fitotoxicidad

Los parámetros de la fitorremediación de Pb en el suelo con menor fitotoxicidad sembrado con *E. colonum* se incrementaron con la inoculación de los consorcios bacterianos. En las plantas de *E. colonum* inoculadas con el consorcio bacteriano 1 el factor de bioacumulación (BAC) en el follaje fue de 0,1650 y en las raíces de 1,0250; el factor de translocación (TF) fue de 0,1611 en comparación con 0,0115; 1,0106; 0,0114 respectivamente en las plantas no inoculadas con bacterias. En este contexto, el porcentaje de remoción de Pb en el suelo fue de 78,83 % con *E. colonum* inoculada con el consorcio bacteriano 1 y 57,58 % con *E. colonum* sin inoculación de bacterias (Tabla 10).

En plantas de *E. colonum* inoculadas y no inoculadas con los consorcios bacterianos los valores del BAC < 1 las calificaron como plantas excluyentes y los valores del TF < 1 como plantas inmovilizadoras del metal. A su vez, debido a que el BCF > 1 y TF < 1 las plantas se consideraron fitoestabilizadoras del Pb.

Tabla 8

Biomasa fresca de malezas 90 días después de la inoculación de consorcios bacterianos tolerantes al plomo

Tratamientos	Biomasa fresca (g)				Sig.	Incremento (%)
	r1	r2	r3	\bar{x}		
<i>Echinochloa colonum</i>	33,60	33,50	34,10	33,73	e	-----
<i>Cyperus corymbosus</i>	34,70	34,30	34,20	34,73	d e	-----
<i>Sorghum halepense</i>	35,70	35,10	35,80	35,53	c d	-----
<i>Echinochloa colonum</i> + consorcio 1	38,30	38,80	38,60	38,56	a	14,32
<i>Cyperus corymbosus</i> + consorcio 2	36,80	36,30	35,90	36,33	b c	4,60
<i>Sorghum halepense</i> + consorcio 3	37,20	36,20	37,60	37,00	b	4,14

Tabla 9

Nivel de fitotoxicidad del suelo en semillas de Raphanus sativus L. 90 días después de la siembra de malezas con y sin consorcios de bacterias tolerantes al plomo

Tratamientos	Porcentaje relativo de germinación (PGR)	Promedio elongación radicular (cm)	Crecimiento relativo de radícula (CRR)	Índice de germinación, IG (%)	Nivel de fitotoxicidad
<i>Echinochloa colonum</i>	79,17	3,22	60,64	48,01	Moderado
<i>Cyperus corymbosus</i>	77,08	3,10	58,38	44,99	Severo
<i>Sorghum halepense</i>	76,04	2,97	55,93	42,53	Severo
<i>Echinochloa colonum</i> + consorcio 1	92,70	5,13	96,61	89,56	Bajo
<i>Cyperus corymbosus</i> + consorcio 2	88,54	4,63	87,19	77,20	Moderado
<i>Sorghum halepense</i> + consorcio 3	86,45	4,80	90,39	78,14	Moderado

Tabla 10

Parámetros de la fitorremediación de suelo contaminado con plomo por Echinochloa colonum con y sin consorcios bacterianos

Parámetros	Valores
Plomo inicial en el suelo (mg kg ⁻¹)	800,00
	9,23
Plomo en follaje de plantas sin bacterias (mg kg ⁻¹)	808,50
	339,38
Plomo en raíces de plantas sin bacterias (mg kg ⁻¹)	
Plomo en el suelo de plantas sin bacterias (mg kg ⁻¹)	
	132,13
Plomo en follaje de plantas con bacterias (mg kg ⁻¹)	820,00
	169,38
Plomo en raíces de plantas con bacterias (mg kg ⁻¹)	
Plomo en el suelo de plantas con bacterias (mg kg ⁻¹)	
BAC follaje de plantas sin bacterias	0,0115
BAC raíces sin bacterias	1,0106
TF follaje y raíces sin bacterias	0,0114
Remoción de Pb (%)	57,58 %
BAC follaje de plantas con bacterias	0,1650
BAC raíces con bacterias	1,0250
TF follaje y raíces con bacterias	0,1611
Remoción de Pb (%)	78,83 %

TF < 1 = Planta no transloca el metal y es fitoestabilizadora

BAC > 1 y TF < 1 = Planta fitoestabilizadora

1 ≤ BAC < 10 = Planta acumuladora

4.6 Identificación del género de las bacterias constituyentes del consorcio con la mayor influencia en la fitorremediación

Las bacterias del consorcio bacteriano 1 con la mayor influencia en la fitorremediación (Tabla 11) se identificaron en los géneros *Pseudomonas* (códigos 1, 3, 7, 9) y *Acinetobacter* (códigos 4, 6).

Tabla 11

Características diferenciales de los géneros Pseudomonas y Acinetobacter identificados en las bacterias constituyentes del consorcio 1 aisladas de E. colinum tolerante al Pb, Lambayeque 2020

Características diferenciales	<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter</i>
Prueba de catalasa	+	+
Prueba de oxidasa	+	-
Prueba de motilidad	+	-
Producción de acidez (TSI)	K/K	A/K
Reducción de nitratos	-	-
Hidrólisis de urea	-	-
Hidrólisis de almidón	-	+
Producción de indol	-	-
Utilización de citrato	+	+
Descarboxilación de lisina (LIA)	K/A	K/A
Hidrólisis de gelatina	-	-
Hidrólisis de esculina	-	-

V. DISCUSIÓN

En el botadero de Reque se cuantificó materia orgánica, MO (0,02 %), nitrógeno, N (0,006 %), fósforo, P (3,7 ppm) y potasio, K (131 ppm) en concentraciones inferiores a las reportadas por Ticona y Apaza (2020) correspondientes a 3,9-4,8 % (MO); 0,8-1,2 % (N); 13,0-26,73 ppm (P) y 154,0-361,1 ppm (K) en el suelo del botadero sanitario de Canchari, Puno. La diferencia puede ser explicada por el contenido de materia orgánica de los residuos y por las condiciones ambientales del lugar. En el botadero de Reque la humedad es mínima, a diferencia del botadero de Puno que funciona en una zona de sobrecarga junto a un drenaje natural, donde la humedad, así como la precipitación propia de la zona favorecen la mineralización microbiana (materia orgánica a inorgánica).

En el suelo del botadero de Reque se cuantificaron metales pesados Cr, Pb y Cd, por cuanto los residuos sólidos municipales abandonados en los botaderos contienen materia orgánica (55 %), así como también inorgánica como vidrios, latas, maderas y fierros que bajo las condiciones ambientales se deterioran y liberan componentes tóxicos como los metales pesados (Chávez et al., 2018).

Los contenidos de Pb (11,91 mg kg⁻¹), Cd (1,12 mg kg⁻¹) y Cr (16,94 mg kg⁻¹) en el suelo del botadero de Reque fueron inferiores a los límites de los estándares de calidad (ECA) para suelo comercial en Perú, como son 800 mg kg⁻¹ (Pb), 22 mg kg⁻¹ (Cd) y 1000 mg kg⁻¹ (Cr). La norma establece que el suelo comercial es aquel cuya actividad principal desarrollada está relacionada con servicios como el caso de los botaderos. En cuanto a la concentración de Cr es muy superior a 0,00000867 mg kg⁻¹ cuantificados en un botadero con 40 años de funcionamiento y en proceso de cierre técnico en Ecuador (Torres et al., 2018).

La tolerancia de las malezas al Pb (800 ppm) demostrada en la presente investigación coincide con los reportes de Amadi y Gbosidom (2022) en *E. colonum*; Rotkittikhun et al., citados por Rigoletto et al. (2020) en *Cyperus* sp. y Sabreena et al. (2022) con *Sorghum* sp. El Pb disminuyó la biomasa fresca de las malezas, efecto negativo reportado previamente por Chaturvedi et al. (2020). Los investigadores demostraron que el Pb (50 – 100 ppm) disminuyó la altura de las plantas (15,38 %) y biomasa (13,7 %) así como también la clorofila, carotenoides y

nitrógeno. Por el contrario, Frachia et al. (2022) reportaron que el Pb (100-500 ppm) incrementó el peso del follaje y raíces de *Inga uruguensis* y con base a la biomasa fresca de las plantas se alcanzó un índice de tolerancia (IT) de 1,21. En una escala que considera plantas sensibles (IT < 0,5), tolerantes (IT 0,5 - 0,8) y altamente tolerantes (IT > 0,8) las plantas de *I. uruguensis* con IT de 1,21 se consideraron altamente tolerantes al Pb.

Los cambios morfológicos y fisiológicos de las plantas en los suelos contaminados con Pb varían según la concentración del metal pesado y la especie vegetal (Lu et al., 2021). Cuando la concentración del contaminante es < 500 ppm se ha reportado incremento en los parámetros de crecimiento (Liu et al., 2018; Frachia et al., 2022), pero también se ha demostrado disminución de la altura y biomasa en plantas desarrolladas con 50-100 ppm Pb (Chaturvedi et al., 2020).

Liu et al. (2018) demostraron que 100 ppm Pb no afectaron el crecimiento de *T. repens*; sin embargo, 500 ppm Pb disminuyeron en forma significativa la longitud de la raíz (19,08 %), altura de planta (25,92%), biomasa aérea (25,1%) y biomasa radicular (24,3%). Los investigadores explicaron que el efecto de 100 ppm del metal pesado en las plantas no fue significativo porque la fracción biodisponible del Pb en el suelo fue muy baja. En suelos contaminados con (100-500 ppm) se determinó 48-54 % de fracción residual; 34-40 % de fracción reciclable; 6,1-8,2 % de fracción ácido – soluble y 4,1 – 5,0 % de fracción oxidable. La fracción ácido – soluble es la más activa en condiciones neutrales y la que presenta mayor biodisponibilidad. Esta fracción es la que disminuye en el suelo fitorremediado; sin embargo, la proporción de las cuatro fracciones no es constante y es afectada por factores externos como los metabolitos microbianos de la rizósfera.

La observación de quemaduras, enrollamientos, clorosis, marchitez y muerte identificó a las plantas no tolerantes al Pb al igual que en los reportes de Peláez et al. (2014) e Isaza (2013). Al respecto Chico et al. (2020) reportaron disminución del peso fresco de hojas y raíces de *Phaseolus vulgaris* variedades Canario y Panamito y Peláez et al. (2014) demostraron deformaciones extremas en las paredes celulares del cortex y la endodermis de las raíces, en el parénquima clorofílico y en las paredes del haz y el envés de la epidermis foliar. El daño severo del Pb en las

plantas se evidencia con una clorosis generalizada, enrollamiento, quemado de las puntas y necrosis prematura de las hojas. El daño extremo del Pb es causa de muerte de las plantas por pérdida de la capacidad fotosintética y sistema de transporte de los nutrientes (Chico et al., 2020; Peláez et al., 2014; Isaza, 2013).

En la presente investigación, en el suelo rizosférico de las plantas tolerantes al Pb se aislaron bacterias al igual que Gorelova et al. (2022) y Manzoor et al. (2019), quienes aislaron microorganismos en la rizósfera de plantas establecidas en suelo contaminado con Pb en forma artificial y por actividad antrópica respectivamente. La rizósfera es el suelo cercano (5 mm) a las raíces, que es influenciada en forma directa por los exudados radiculares y en donde se encuentra la mayor población de microorganismos que interactúan con las plantas (Gamalero y Glick, 2022).

Respecto a la predominancia de bacterias Gram negativas en los consorcios bacterianos aislados de las plantas tolerantes al Pb se coincide con la investigación de Manzoor et al. (2019) quienes determinaron 62 % de bacterias Gram negativas tolerantes al Pb en bacterias aisladas de suelo contaminado con metales pesados por actividad antrópica. Liu et al. (2018) determinaron cambios significativos en la población microbiana desarrollada en un sitio contaminado con Pb. Al inicio predominó (88,5 %) el Phylum Firmicutes y después éste disminuyó hasta 12,1 %. Por el contrario, aumentaron los Phylum Bacteroidetes y Proteobacteria. Asimismo, aumentó la abundancia relativa de los géneros bacterianos *Flavisolibacter*, *Kaistobacter* y *Pseudomonas* y disminuyeron los géneros *Bacillus*, *Adhaeribacter*, *Pantibacter* y *Paenibacillus*.

Las bacterias rizosféricas de las malezas tolerantes al Pb solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron AIA, características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento en las plantas. Las bacterias solubilizadoras de fosfato producen ácidos orgánicos que desestabilizan el mineral precipitado y liberan el fósforo soluble para las plantas (Gavrilescu, 2022). Debido a que en el suelo la disponibilidad del Pb es muy baja por la formación de precipitados insolubles, se utilizan compuestos sintéticos como el etilendiamino tetracético (EDTA) y ácidos

orgánicos como el cítrico y el málico para mejorar la accesibilidad del Pb en el suelo y la translocación de la raíz al follaje (Israr y Sahi, 2008). En este contexto, las bacterias solubilizadoras de fosfato mediante la producción de ácidos orgánicos favorecen la disponibilidad del Pb y una mayor absorción por el sistema radicular (Gupta et al., 2013).

Los microorganismos rizosféricos producen fitohormonas como las auxinas que inducen la proliferación del sistema radicular, citoquininas relacionadas con el crecimiento celular y regulan hormonas como el etileno mediante la actividad de la enzima amino 1- carboxilato (ACC) desaminasa, además de la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de sideróforos y amonio (Gavrilescu, 2022). La acumulación del Pb se incrementa cuando junto al EDTA se aplican auxinas como el ácido indol acético. En *Sesbania drummondii* el Pb acumulado se incrementó en 4,2 – 6,5 puntos cuando se aplicaron 100 mMol de AIA; no obstante, cuando se realizó la mezcla de esta fitohormona con EDTA el Pb acumulado se incrementó en 12,5 – 13,5 puntos (Israr y Sahi, 2008).

Las rizobacterias tolerantes al Pb y con características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal (solubilización de fosfatos y producción de ácido indol acético) aumentaron la biomasa de las malezas investigadas, los valores de los factores de acumulación, translocación y tasa de remoción de Pb en el suelo, efecto benéfico similar al reportado por Manzoor et al. (2019) en las plantas ornamentales *Pelargonium hortorum* y *Mesembryanthemum criniflorum* desarrolladas en suelo contaminado de manera artificial con 500 - 2000 mg Kg⁻¹ de Pb. Los investigadores demostraron que *Bacillus tequilensis* aumentó la biomasa de ambas plantas en suelos sin y con concentraciones crecientes de Pb. Se registró incremento de 65,52 % en *M. criniflorum* y 64,04 % *P. hortorum* en el suelo con 2000 mg Pb Kg⁻¹.

En la presente investigación las raíces de *E. colonum* con y sin bacterias acumularon 820 y 808,50 mg Kg⁻¹ Pb por lo que la especie puede ser utilizada para la fitorremediación de suelos contaminados. Al respecto, Raskin citado por Frachia et al. (2022), concluyó que una planta puede ser considerada para la fitorremediación cuando al menos acumula 1 mg Kg⁻¹ de Pb en sus tejidos. A

diferencia, Gorelova et al. (2022) en el proceso de fitorremediación de un suelo contaminado con metales pesados, cuantificaron 1,57 – 7,38 mg Pb kg⁻¹ de raíces y 0,14 – 0,88 mg Pb kg⁻¹ de follaje de *Echinochloa frumentacea* y concluyeron que esta especie no es adecuada para la remediación porque acumula y remueve muy poco Pb (0,18 – 0,94 g ha⁻¹), en comparación con otras plantas como el sorgo con 107 – 378 g ha⁻¹.

El factor de bioacumulación (BAC) de Pb en las raíces de *Echinochloa colonum* con y sin bacterias fue mayor que 1 y el factor de traslocación (TF) fue menor de 1, resultado que demostró que esta especie vegetal es fitoestabilizadora del metal pesado Pb, por cuanto las plantas con un BF > 1 y TF < 1 son apropiadas para la fitoestabilización (Rigoletto et al., 2020). El factor de bioacumulación o bioconcentración estima en las plantas la capacidad de absorción de metales y el factor de traslocación evalúa el transporte del metal desde la raíz hacia el follaje (Rigoletto et al., 2020). El potencial de fitorremediación de metales pesados depende de la capacidad de las plantas para acumular los contaminantes en los tejidos (Chaturvedi et al., 2020). Los valores del TF de 0,1611 y 0,0114 en las plantas de *E. colonum* con y sin bacterias fueron menores al rango de 0,061 – 0,819 registrado por Lu et al. (2021) en *Taraxacum mongolicum* y *Plantago asiatica* L. desarrolladas con 5 % de Pb. Según Gupta et al. (2013) plantas con un factor de translocación menor a 1 no son capaces de transportar el contaminante desde las raíces hasta el follaje y se utilizan para la fitoestabilización del contaminante. De esta manera lo inmovilizan y evitan la contaminación de aguas subterráneas.

La concentración de Pb acumulada en las raíces fue mayor que el follaje de las plantas de *E. colonum* con y sin bacterias, superioridad que coincide con las investigaciones de Gorelova et al. (2022) y Lu et al. (2021). Después que el Pb ingresa en el suelo se mantiene en su mayoría en las formas divalentes (óxidos y sulfuros). En la raíz se encuentran las formas precipitadas de fosfato de Pb y carbonato de Pb que son difíciles de transportar hacia la parte aérea (Lu et al., 2021). Las plantas responden frente al estrés por el Pb de diferente manera, pero es común un BAC mayor en las raíces, en comparación con el del follaje (Lu et al., 2021). Estos investigadores determinaron en la raíz de *Plantago asiatica* L. un

rango en el BAC de 0,931 – 1,062 y en las hojas de 0,074-0,087, resultado que demostró que la raíz es el órgano principal de absorción y acumulación del Pb. De igual manera, Gorelova et al. (2022) cuantificaron 1,57 – 6,93 mg Pb Kg⁻¹ en las raíces y 0,14 – 0,20 mg Pb kg⁻¹ en el follaje de *Echinochloa frumentacea*, en suelos contaminados (24 – 36 mg Pb Kg⁻¹).

El contenido de Pb disminuyó en el suelo fitorremediado con y sin bacterias, disminución reportada previamente por Lu et al. (2021) y Gorelova et al. (2022). Al finalizar el presente estudio se alcanzó 57,58 % de remoción del contaminante en el suelo de las plantas donde no se aplicaron bacterias y 78,83 % cuando se aplicaron bacterias. El rango del porcentaje de remoción del Pb es superior a 13,01 – 31,89 % registrado por Lu et al. (2021) en suelos contaminados con 2 – 5 % de Pb y remediados con *Artemisia capillaris* y *Plantago asiatica* L.

La fitorremediación de suelos contaminados con metales puede ser mejorada con procesos como la sinergia entre plantas y microorganismos promotores de crecimiento en plantas, adición de agentes quelantes o de enmiendas y uso de plantas transgénicas (Gavrilescu, 2022). Los microorganismos favorecen la fitorremediación del suelo contaminado, de manera directa al reducir el efecto tóxico e incrementar el metal absorbido en las raíces y el follaje (Manzoor et al., 2019) y de manera indirecta a través de la promoción de crecimiento en las plantas (Gavrilescu, 2022).

Los microorganismos promotores de crecimiento incrementan la solubilidad del Pb porque disminuyen el pH (Manzoor et al., 2019), adsorben en su superficie y precipitan el Pb (Zhu et al., 2022), oxidan al acetato y reducen el Pb II a plomo metálico (Abdebrahman y Younggy, 2021), capturan el Pb por el mecanismo de biosorción (Saleh, 2005); modifican la biodisponibilidad del Pb mediante la producción de sideróforos, solubilización de fosfatos, producción de ácidos orgánicos y exopolisacáridos (Shah y Davery, 2020) y transforman el Pb a formas inertes como sulfato de plomo y sulfuros de plomo (Rigoletto et al., 2020).

Los microorganismos promotores son favorecidos por los exudados radiculares de las plantas tolerantes al Pb, como lo reportaron Kushwaha et al.

(2022), quienes caracterizaron los exudados y extractos radiculares de *Chrysopogon zizanioides*. Las plantas se mantuvieron en solución Hoagland con 100 mg Kg^{-1} de Pb II y en el día 20 se incrementaron los carbohidratos totales (27 %), azúcares reductores (21 %), proteína (9 %), ácidos fenólicos (15 %), flavonoides (14 %) y alcaloides (12 %) en los exudados radiculares, así como 43, 56, 24, 8, 12 y 18 % en los extractos radiculares. Este resultado evidenció que las plantas desarrolladas en suelos contaminados con Pb son fuente de carbono que modifica la actividad y el número de microorganismos radiculares.

Los exudados radiculares favorecen la solubilidad y movilidad de los iones y por tanto mejoran la eficiencia de la fitorremediación (Kushwaha et al., 2022). Al respecto, Kim et al. (2010) demostraron que los ácidos cítrico y oxálico liberados por las raíces de *Echinochloa cruz-galli* incrementaron la traslocación del Cu II, Cd II y Pb II desde las raíces hacia el follaje. Los fenoles y flavonoides presentan actividad antioxidante y los alcaloides están relacionados con los mecanismos de defensa de la planta. Los exudados radiculares son utilizados como nutrientes por microorganismos rizosféricos y favorecen la colonización temprana para inducir respuestas quimiotácticas en las bacterias como lo demostraron Kushwaha et al. (2022) en condiciones *in vitro* con extractos de *Ch. zizanioides* frente a *A. junii*, *B. subtilis* y *B. licheniformis*.

Los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter* se identificaron en las bacterias del consorcio 1. El respecto se coincide con Manzoor et al., 2019 (*Pseudomonas*) y Abdelrahman y Younggy, 2021 (*Acinetobacter*). Las bacterias reportadas como tolerantes al Pb, con potencial para la fitorremediación de suelo contaminado con el metal pesado pertenecen a los géneros *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Sporosarcina*, *Microbacterium*, *Staphylococcus*, *Bacillus* (Manzoor et al., 2019), *Flavisolibacter*, *Kaistobacter* (Liu et al., 2018), así como las especies *Acinetobacter calcoaceticus* (Zhu et al., 2022), *Delftia acidovorans* y *Azonexus caeni* (Abdelrahman y Younggy, 2021), *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* (Saleh, 2005).

VI. CONCLUSIONES

- 6.1 El suelo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, presentó una textura arenosa, condición no salina, niveles bajos de nitrógeno y fósforo, nivel medio de potasio y los metales pesados Cr (16,94 ppm), Pb (11,91 ppm) y Cd (1,12 ppm). Asimismo, en el suelo se cuantificaron $1,5 \times 10^6$ NMP/g de microorganismos totales y 28 NMP/g de microorganismos tolerantes al Pb.
- 6.2 El 20 % de las malezas investigadas se consideró tolerante al Pb, entre las que se incluyeron a *Echinochloa colonum*, *Cyperus corymbosus* y *Sorghum halepense* con índices de tolerancia de 0,80; 0,76 y 0,72 % respectivamente.
- 6.3 Todas las bacterias constituyentes del consorcio 1 solubilizaron fosfato tricálcico y produjeron AIA y se cuantificaron 7,97-11,93 ppm de fósforo soluble y 51-69 ppm de ácido indol acético (AIA). El 50 % de las bacterias constituyentes del consorcio 2 solubilizaron fosfato y el 100 % produjo AIA. El 33,3 % de bacterias constituyentes del consorcio 3 solubilizaron fosfato y el 50 % produjo AIA.
- 6.4 Los consorcios de bacterias rizosféricas influenciaron de forma positiva en el crecimiento de las malezas tolerantes al Pb y se observó 4,14 – 14,32 % de incremento en la biomasa fresca de las plantas inoculadas, así como también se redujo el nivel de fitotoxicidad del suelo fitorremediado, el cual se calificó como bajo en el tratamiento de *E. colonum* + consorcio bacteriano 1.
- 6.5 Los parámetros de la fitorremediación de Pb en el suelo con menor fitotoxicidad sembrado con *E. colonum* se incrementaron con la inoculación de los consorcios bacterianos. El porcentaje de remoción de Pb en el suelo fue de 78,83 % con *E. colonum* inoculada con el consorcio bacteriano 1 y 57,58 % con *E. colonum* sin inoculación de bacterias.
- 6.6 Las bacterias del consorcio bacteriano 1 con la mayor influencia en la fitorremediación se identificaron en los géneros *Pseudomonas* (códigos 1, 3, 7, 9) y *Acinetobacter* (códigos 4, 6).

VII. RECOMENDACIONES

Identificar a nivel molecular las bacterias constituyentes del consorcio 1 aislado de la rizósfera de *E. colonum*.

Comparar la remediación de suelo contaminado con Pb mediante el cultivo de *E. colonum* con y sin el consorcio bacteriano 1 en condiciones de campo.

Investigar la eficiencia de la remoción de Pb por *E. colonum* en el sistema de humedales artificiales con y sin el consorcio bacteriano 1.

VIII. REFERENCIAS

- Abdelrahman, A., y Younggy, K. (2021). Isolation of Pb(II)-reducing bacteria and demonstration of biological Pb(II) reduction to metallic Pb. *Journal of Hazardous Materials*, 423(PtA), 126975. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126975>
- Acaro, F., Ccahuana, M., y Cahuana, T. (2014). Intoxicación ocupacional por plomo en diversos grupos de trabajadores del cercado de Ica, Perú. *Ágora Revista Científica*, 1(1), 20-25. doi: <http://dx.doi.org/10.21679/arc.v1i1.12>
- Acosta, L., Bustamante, D. (2020). *Caracterización de microorganismos oxidantes del azufre y su potencial para la recuperación de suelo sódico con la aplicación de azufre* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú]. https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8875/Acosta_Piscoya_Lisbeth_Mar%c3%ada_del_Milagros_y_Bustamante_Tantale%c3%a1n_Deborah_Mariel.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Almasi, A., Mohammadi, M., Kazemitabar, Z., y Hemati, L. (2021). Phytoremediation potential of *Echinochloa crus galli* and *Hibiscus cannabinus* in the stabilization of municipal wastewater sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18, 2137-2144. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02958-9>
- Álvarez, C., Osorio, W., Díez, M., y Marín, M. (2014). Caracterización bioquímica de microorganismos rizosféricos de plantas de vainilla con potencial como biofertilizantes. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 225-241. <https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15426>
- Amadi, N., y Gbosidom, V. (2022). Assessment of heavy metal uptake ability of *Echinochloa colona* in orange peel amended soil. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 9(1), 40-48. <https://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2022.09.01.005>
- Argota, G., Encinas, M., Argota, H., y Iannaccone, J. (2014). Coeficientes biológicos de fitorremediación de suelos expuestos a plomo y cadmio utilizando *Alopecurus magellanicus bracteatus* y *Muhlenbergia angustata* (Poaceae),

- Puno, Perú. *The Biologist*, 12(1), 99-108.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4755671>
- Azcona, M., Ramírez, R., y Vicente, G. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 20(1), 72-77.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2015/rmq1511.pdf>
- Chaturvedi, R., Favas, P., Pratas, J., Varun, M., y Paul, M. (2020). Harnessing *Pisum sativum-Glomus mosseae* symbiosis for phytoremediation of soil contaminated with lead, cadmium, and arsenic. *International Journal of Phytoremediation*, 23(3), 279-290. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1812507>
- Chávez, L. (2014). *Fitorremediación con especies nativas en suelos contaminados por plomo* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú]. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2435/T01-C517-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chávez, M., y Leonardo, C. (2018). Impacto ambiental generado por el botadero de residuos sólidos en un caserío de la ciudad de Chota. *Revista de Investigación y Cultura*, 7(2). <https://doi.org/10.18050/RevUCVHACER.v7n2a4>
- Chico, J., Cerna, L., Gonzales, L., y Rodríguez, M. (2020). Estrés inducido por plomo en el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* L. variedades canario y panamito. *Campus*, 25(29), 27-40. <https://doi.org/10.24265/campus.2020.v25n29.02>
- Contreras, H., y Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33. <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Contreras, L., Valencia, C., De la Fuente, N., Linaje, M., y Trejo, R. (2016). Estudio de absorción, acumulación y potencial para la remediación de suelo contaminado por plomo usando *Ambrosia ambrosioides*, Coahuila, México. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 244-250. https://www.researchgate.net/publication/309009676_ESTUDIO_DE_A

BSORCION_ACUMULACION_Y_POTENCIAL_PARA_LA_REMEDIACION
_DE_SUELO_CONTAMINADO_POR_PLOMO_USANDO_AMBROSIA_AM
BROSIOIDES

- Cordero, J. (2015). *Fitorremediación in situ para la recuperación de suelos contaminados por metales pesados (plomo y cadmio) y evaluación de selenio en la finca Furatena alta en el municipio de Útica (Cundinamarca)* [tesis de pregrado, Universidad Libre, Bogotá. Colombia]. <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/7958/Fitorremediacion%20in%20situ%20para%20la%20remoci%C3%B2n%20de%20metales%20pesados%20%28plomo%20y%20cadmio%29%20y%20evaluaci%C3%B2n%20de%20sel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Covarrubias, S., y Peña, J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de remediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7-21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- Coyago, E., y Bonilla, S. (2016). Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetativas usadas para consumo animal y humano. *LA GRANJA: Revista de Ciencias de la Vida*, 23(1), 35-46. <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/23.2016.04>
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2(1), 39-49. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357633697005>
- Frachia, C., Navarro, V., da Silva, W., Ferreira, Isis., Bocchi, M., Anjos, L., Costa, G., y Santos, L. (2022). *Inga uruguensis* response to lead: effects on growth and nitrogenous compounds. *Rodriguésia*, 73, 11. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202273063>
- Gamalero, E., y Glick, B. (2022). Recent Advances in Bacterial Amelioration of Plant Drought and Salt Stress. *Biology*, 11, 437. <https://doi.org/10.3390/biology11030437>

- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 107-116. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357633695001>
- Gavrilescu, M. (2022). Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 74, 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.024>
- Gorelova, S., Yu, A., Zinicovscaia, I., Okina, O., y Kolbas, A. (2022). Prospects for the Use of *Echinochloa frumentacea* for Phytoremediation of Soils with Multielement Anomalies. *Soil Systems*, 6(1), 27. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010027>
- Gupta, D., Huang, H., y Corpas, F. (2013). Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research International*, 20(4), 2150-2161. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1485-4>
- Gupta, P., Kumar, V., Usmani, Z., Rani, R., y Chandra, A. (2017). Phosphate solubilization and chromium (VI) remediation potential of *Klebsiella* sp. strain CPSB4 isolated from the chromium contaminated agricultural soil. *Chemosphere*, 192, 318-327. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.164>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*. (6ta ed.). Hill Interamericana Editores S.A.
- Isaza, G. (2013). Efecto del plomo sobre la imbibición, germinación y crecimiento de *Phaseolus vulgaris* L. y *Zea mays* L. *Bioteconología Vegetal*, 13(3), 161-167. <https://biblat.unam.mx/hevila/Bioteconologiavegetal/2013/vol13/no3/4.pdf>
- Israr, M., y Sahi, S. (2008). Promising role of plant hormones in translocation of lead in *Sesbania drummondii* shoots. *Environmental Pollution*, 153(1), 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.12.029>
- Kim, S., Lim, H., y Lee, I. (2010). Enhanced heavy metal phytoextraction by *Echinochloa crus-galli* using root exudates. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(1), 47-50. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.06.018>

- Kushwaha, A., Hans, N., Shekher, B., Rene, E., y Rani, R. (2022). Uncovering the phytochemicals of root exudates and extracts of lead (Pb) tolerant *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty in response to lead contamination and their effect on the chemotactic behavior of rhizospheric bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4), 44998-45012. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18887-8>
- Lakhal, D., Boutaleb, N., Bahlaouan, B., Taiek, T., Fathi, A., Mekouar, M., Abouakil, N., Lazar, S., y El antri, S. (2017). Mixture Experimental Design in the Development of a Bio Fertilizer from Fish Waste, Molasses and Scum. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 6(6), 588-594. <https://www.ijert.org/research/mixture-experimental-design-in-the-development-of-a-bio-fertilizer-from-fish-waste-molasses-and-scum-IJERTV6IS060242.pdf>
- Lizarbe, K., Rivera, Y., Mendoza, J., Vera, M., y Rodríguez, R. (2016). Fitoextracción de plomo, zinc y cadmio de relaves mineros utilizando *Helianthus annuus* L. (Girasol), Huacho, Perú. *Infinitum*, 6(2), 74 - 79. <https://revistas.unjfsc.edu.pe/index.php/INFINITUM/article/view/38>
- Liu, C., Lin, H., Dong, Y., Li, B., y Liu, Y. (2018). Investigation on microbial community in remediation of lead-contaminated soil by *Trifolium repens* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 165, 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.ecoen.2018.08.054>
- Lu, N., Li, G., Sun, Y., Wei, Y., He, L., y Li, Y. (2021). Phytoremediation potential of four native plants in soils contaminated with lead in a mining area. *Land*, 10, 1129. <https://doi.org/10.3390/land10111129>
- Luna, E. (2018). *Biorremediación utilizando Distichia muscoides y Calamagrostis glacialis del drenaje ácido de roca proveniente del nevado de Pastoruri – 2015* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/22264>
- Manzoor, M., Gul, I., Ahmed, I., Zeeshan, M., Hashmi, I., Zafar, B., Kallerhoff, J., y Arshad, M. (2019). Metal tolerant bacteria enhanced phytoextraction of lead

by two accumulator ornamental species. *Chemosphere*, 227, 561-569. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.093>

Matte, T. (2003). Efectos del plomo en la salud de la niñez. *Salud Pública de México*, 45(Suppl:2), 220-224. <https://www.medigraphic.com/pdfs/salpubmex/sal-2003/sals032h.pdf>

Ministerio del Ambiente, MINAM. (2017). Decreto Supremo N° 011 - 2017 - MINAM del 2 de diciembre de 2017 por el cual se aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo. Lima: Ministerio del Ambiente de Perú. <http://sinia.minam.gob.pe/download/file/fid/59914>

Ministerio del Ambiente, MINAM. (2014). Decreto Supremo N° 002 - 2014 - MINAM del 24 de marzo de 2014 por el cual aprueban disposiciones complementarias para la aplicación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo para suelo. Lima: Ministerio del Ambiente de Perú. <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2014/03/DS-002-2014-MINAM.pdf>

Molina, N., Aguilar, P., y Cordovez, C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, 8(1), 77-88. <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo/vol8/iss1/8/>

Nakbanpote, W., Meesungnoen, O., y Prasad, M. (2016). Potential of ornamental plants for phytoremediation of heavy metals and income generation. *Bioremediation and Bioeconomy*, 179-217. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802830-8.00009-5>

Ortega, N. (2009). *Fitorremediación de suelo contaminado por plomo (Pb), cadmio (Cd) y arsénico (As) mediante la especie vegetal Nicotiana glauca G* [tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Torreón, Coahuila, México]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2573/NATALIA%20ORTEGA%20MORALES.pdf?sequence=1>

Paiva, G. (2015). *Fitorremediación de suelos contaminados con plomo utilizando Amaranthus spinosus – Amaranthaceae en Cusco del 2012* [tesis de doctorado, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú].

- <https://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/5190/91.0337.DR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Peláez, M., Casierra, F., y Torres, G. (2014). Toxicidad por Cd y Pb en la hierba curtidor *Brachiaria arrecta*. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(2), 3-13. <https://doi.org/10.22267/rcia.143102.27>
- Pérez, L. (2008). *Fitorremediación de suelo contaminado por Pb y Zn mediante la especie vegetal Nicotina glauca G* [tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Torreón, Coahuila, México]. https://node2.123dok.com/dt02pdf/123dok_es/000/876/876640.pdf.pdf?X-Amz-Content-Sha256=UNSIGNED-PAYLOAD&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=aa5vJ7sqx6H8Hq4u%2F20221209%2F%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20221209T182329Z&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Expires=600&X-Amz-Signature=46ee572d47d605c882b416273a6f7364df0b49bf6319c8c070766d7bfdd2f8a9
- Pinto, A., de Varennes, A., Fonseca, R., y Teixeira, D. (2015). Phytoremediation of Soils Contaminated with Heavy Metals: Techniques and Strategies. *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*, 1, 133-155. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10395-2_10
- Rigoletto, M., Calza, P., Gaggero, E., Malandrino, M., y Fabbri, D. (2020). Bioremediation Methods for the Recovery of Lead-Contaminated Soils: A Review. *Applied Sciences*, 10(10), 3528. <https://doi.org/10.3390/app10103528>
- Rodier, J., y Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*. Ediciones Omega, España.
- Rodríguez, R., Cuéllar, L., Maldonado, C., y Suardiaz, M. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 251-271. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=70505>
- Ruíz, D. (2013). *Fitorremediación de suelos contaminados con plomo en actividades industriales* [tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Torreón, Coahuila, México].

https://node2.123dok.com/dt02pdf/123dok_es/000/876/876649.pdf.pdf?X-Amz-Content-Sha256=UNSIGNED-PAYLOAD&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=aa5Vj7sqx6H8Hq4u%2F20221209%2F%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20221209T183625Z&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Expires=600&X-Amz-Signature=39d339921773cad20dc15ea3fc4bae262a4304a0d11ab119f9b2088e5e07a50fa

Sabreena., Hassan, S., Bhat, S., Kumar, V., Ganai, B., y Ameen, F. (2022).

Phytoremediation of Heavy Metals: An Indispensable Contrivance in Green Remediation Technology. *Plants*, 11(9), 1255.
<https://doi.org/10.3390/plants11091255>

Salas, C., Garduño, M., Mendiola, P., Vences, J., Zetina, V., Martínez, O., y Ramos, M. (2019). Fuentes de contaminación por plomo en alimentos, efectos en la salud y estrategias de prevención. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20(1), 16.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81359562002>

Saleh, M. (2005). Biosorption of lead by Gram-ve capsulated and non-capsulated bacteria. *Water SA*, 31(03), 345-350.
<https://www.ajol.info/index.php/wsa/article/view/5224>

Shah, V., y Daverey, A. (2020). Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 18, 100774. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100774>

Ticona, L., y Apaza, C. (2020). Evaluación del impacto de la contaminación de los residuos sólidos sobre suelo y agua del botadero sanitario de Cancharani - Puno. *Ñawparisun - Revista de Investigación Científica*, 2(4).
<http://unaj.edu.pe/revista/index.php/vpin/article/view/104>

Torres, M., Merizalde, M., Jami, L., Mora, M., Carrera, D., Gutiérrez, O., Masabanda, M., y Delgado, V. (2018). Caracterización físico-química del suelo del botadero de Portoviejo y análisis de la distribución espacial de cromo (VI), níquel, bromo y hierro. *FIGEMPA: Investigación Y Desarrollo*, 6(2), 10-19.
<https://doi.org/10.29166/revfig.v1i2.1608>

Zhu, X., Li, X., Shen, B., Zhang, Z., Wang, J., y Shang, X. (2022). Bioremediation of lead-contaminated soil by inorganic phosphate-solubilizing bacteria immobilized on biochar. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 237, 113524. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113524>

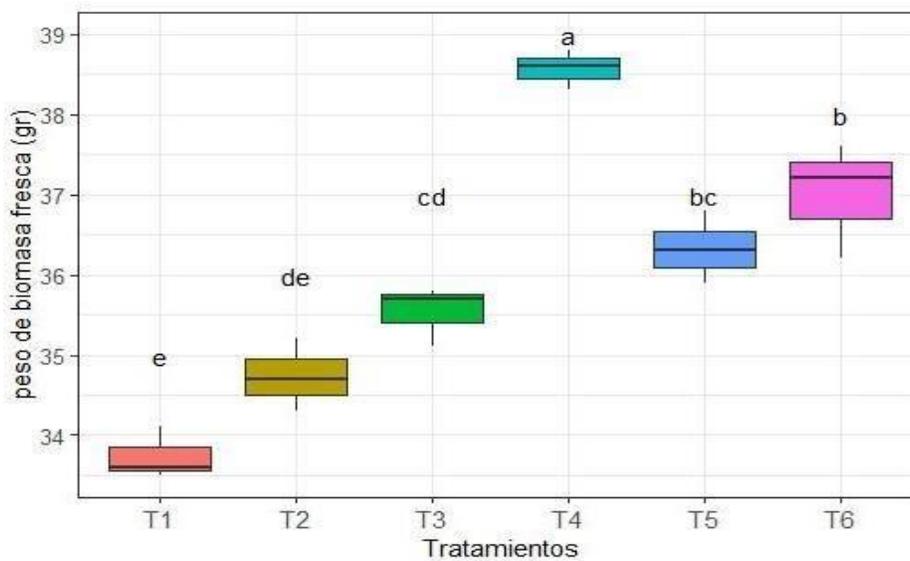
ANEXO

Análisis de normalidad, homogeneidad y ANOVA de la biomasa fresca de las malezas a los 90 días después de la inoculación de consorcios bacterianos

Pruebas de normalidad		Prueba de homogeneidad	
Kolmogorov- Smirnov	Shapiro- Wilk	Estadístico de Levene	
D= 0,090701	W= 0,95942	Grado de libertad	5
P-valor= 0,9598	P-valor = 0,5905	F- Valor	10,083
		Pr(>F) p- valor	0,454

ANOVA					
	Df	suma de cuadrados	media de cuadrados	F- valor	P - valor
Tratamientos	5	43,97	8,79	42,67	0,001
Residuales	12	2,47	0,206		

Prueba de contraste - Tukey		
Tratamientos	Media	Significancia
T4	38,56	a
T6	37,00	b
T5	36,33	b c
T3	35,53	c d
T2	34,73	d e
T1	33,73	e





ACTA DE SUSTENTACIÓN

ACTA DE SUSTENTACION VIRTUAL N° 034-2022- FCCBB-UI



Siendo las 9:30 horas del día 28 de diciembre de 2022, se reunieron vía plataforma meet.google.com/jhn-qnsq-msw los Miembros de Jurado evaluador de la tesis titulada “**Malezas con potencial para la fitorremediación de suelo contaminado con plomo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque**”, designados por Resolución N° 533-2018-FCCBBD de fecha 07 de noviembre de 2018 y Resolución N° 367-2019-FCCBB/D de fecha 11 de junio de 2019, con la finalidad de evaluar y calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformada por los siguientes docentes:

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza
Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez
Ing. Ernesto Arturo Mendoza Yacarini
Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

Presidenta
Secretario
Vocal
Asesora

El acto de sustentación fue autorizado por Resolución N°364-2022-VIRTUAL-FCCBB/D, de fecha 26 de diciembre de 2022, de la sustentación virtual.

La Tesis fue presentada y sustentada por el **Bachiller SERGIO DANIEL MURO DEL VALLE** y el **Bachiller ALEJANDRO JHORDAN MAGO CÓRDOVA**, tuvo una duración de 30 minutos. Después de la sustentación y absueltas las preguntas y observaciones por los miembros del jurado, se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de (MUY BUENO) (19) en la escala vigesimal.

Por lo que el **Bachiller SERGIO DANIEL MURO DEL VALLE** y el **Bachiller ALEJANDRO JHORDAN MAGO CÓRDOVA** quedan **APTOS** para obtener el título profesional de Licenciado en Biología – Microbiología - Parasitología, de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ciencias Biológicas y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 11:00 am se dio por concluido el presente acto académico, dando conformidad con la firma de los miembros del jurado.

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza
Presidenta

Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez
Secretario

Ing. Ernesto Arturo Mendoza Yacarini
Vocal

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán
Asesora

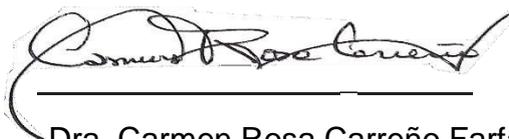
CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, Carmen Rosa Carreño Farfán, Asesor de Tesis, de los bachilleres Alejandro Jhordan Mago Córdova y Sergio Daniel Muro Del Valle.

Titulada: Malezas con potencial para la fitorremediación de suelo contaminado con plomo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un índice de similitud de 17 % verificable en el reporte de similitud del programa Turnitin.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.


Lambayeque, 27 de diciembre de 2022



Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán
DNI:16494424
ASESOR



Recibo digital


Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán
Asesora

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación, podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Alejandro Jhordan Mago Córdova Sergio Daniel Muro Del Valle
Título del ejercicio: Tesis pregrado
Título de la entrega: Malezas con potencial para la fitorremediación de suelo con...
Nombre del archivo: ULTIMA_TESIS_LISTA_PARA_TURNITIN-_18_de_diciembre.docx
Tamaño del archivo: 3.72M
Total páginas: 69
Total de palabras: 15,073
Total de caracteres: 86,017
Fecha de entrega: 19-dic.-2022 05:38p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 1984730966

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

**Malezas con potencial para la fitorremediación de
suelo contaminado con plomo del botadero de
residuos sólidos municipales de Reque,
Lambayeque**


TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:
Bach. Alejandro Jhordan Mago Córdova
Bach. Sergio Daniel Muro Del Valle

LAMBAYEQUE, PERÚ
2022

Malezas con potencial para la fitorremediación de suelo contaminado con plomo del botadero de residuos sólidos municipales de Reque, Lambayeque

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	10%
2	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	minerva.usc.es Fuente de Internet	< 1%
5	repository.unad.edu.co Fuente de Internet	< 1%
6	repositorio.unasam.edu.pe Fuente de Internet	< 1%
7	repositorio.unc.edu.pe Fuente de Internet	< 1%
8	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	< 1%

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán
Asesora

9	doaj.org Fuente de Internet	< 1 %
10	repositorio.unprg.edu.pe:8080 Fuente de Internet	< 1 %
11	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	< 1 %
12	repositorio.ucss.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
13	oa.upm.es Fuente de Internet	< 1 %
14	revistas.untrm.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %
15	Submitted to Universidad Nacional de Trujillo Trabajo del estudiante	< 1 %
16	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	< 1 %
17	proleche.com Fuente de Internet	< 1 %
18	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	< 1 %
19	repositorio.untels.edu.pe Fuente de Internet	< 1 %

20	repositorio.ute.edu.ec Fuente de Internet	< 1 %
21	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	< 1 %
22	biblioteca2.uaaan.mx Fuente de Internet	< 1 %
23	itchetumal.edu.mx Fuente de Internet	< 1 %
24	fundacionlasirc.org Fuente de Internet	< 1 %
25	www.mdpi.com Fuente de Internet	< 1 %
26	xipe.insp.mx Fuente de Internet	< 1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo