



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



**“Eficiencia de la remoción de cromo hexavalente, Cr<sup>6+</sup>, por  
plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial,  
2014”**

## **TESIS**

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

**PRESENTADO POR:**

**Br. Miriam Esthefany Burgos Tuñoque  
Br. Sindy Loren Diez Vásquez**

**LAMBAYEQUE – PERÚ**

**2015**

**“Eficiencia de la remoción de cromo hexavalente, Cr<sup>6+</sup>,  
por plantas en humedales artificiales de flujo  
subsuperficial, 2014”**

**TESIS**

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

**PRESENTADO POR:**

**Br. Miriam Esthefany Burgos Tuñoque  
Br. Sindy Loren Diez Vásquez**

**APROBADO POR:**

Msc. Clara Cueva Castillo  
**PRESIDENTE**

---

Dr. Antero Vásquez García  
**SECRETARIO**

---

Dra. Gianina Llontop Barandiaran  
**VOCAL**

---

Dra. Carmen Carreño Farfán  
**PATROCINADORA**

---

## Índice

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	01
<b>II.</b>	<b>ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	03
	2.1. Antecedentes de la investigación	03
	2.2. Metales pesados: Cromo	06
	2.3. Fitorremediación	07
	2.4. Humedales en el tratamiento en aguas residuales	10
<b>III.</b>	<b>MATERIAL Y METODOS</b>	14
	3.1. Material	14
	3.1.1. Material biológico	14
	3.1.2. Población y muestra de estudio	14
	3.2. Métodos	14
	3.2.1. Variables en estudio	14
	3.2.2. Tipo de estudio y contrastación de hipótesis	14
	3.2.3. Recopilación de información sobre plantas utilizadas para la remoción de $\text{Cr}^{6+}$	15
	3.2.4. Lugar de muestreo	15
	3.2.5. Colección y acondicionamiento de plantas	15
	3.2.6. Determinación de la tolerancia de plantas a concentraciones crecientes de $\text{Cr}^{6+}$	23
	3.2.7. Diseño de un humedal artificial de flujo subsuperficial	23
	3.2.8. Determinación de la eficiencia de la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres plantas en condiciones de HAFSS	27
	3.3. Análisis de datos	31
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b>	32
	4.1. Plantas de la región Lambayeque seleccionadas para la remoción de $\text{Cr}^{6+}$	32
	4.2. Tolerancia de plantas a diferentes concentraciones de $\text{Cr}^{6+}$	32
	4.3. Eficiencia de la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial	42
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	52
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	56
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	57
<b>VIII.</b>	<b>RESUMEN</b>	58
<b>IX.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	59
<b>X.</b>	<b>ANEXOS</b>	64

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Posición de los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en la provincia de Chiclayo, Región Lambayeque – noviembre 2014.....	17
<b>Tabla 2.</b> Especies vegetales con potencial en la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ , colectadas en campos agrícolas de la provincia de Chiclayo, noviembre 2014.....	32
<b>Tabla 3.</b> Malezas colectadas en campos agrícolas de la provincia de Chiclayo, noviembre 2014.....	33
<b>Tabla 4.</b> Tolerancia (%) al $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en condiciones de invernadero, 2014 .....	43
<b>Tabla 5.</b> Valores de absorbancia (540 nm) de diferentes concentraciones de $\text{Cr}^{6+}$ .....	45
<b>Tabla 6.</b> Absorbancia (540 nm) de efluentes contaminados con $\text{Cr}^{6+}$ en humedales artificial de flujo subsuperficial.....	46
<b>Tabla 7.</b> Concentración ( $\text{mgL}^{-1}$ ) de $\text{Cr}^{6+}$ en efluentes de humedales artificiales de flujo subsuperficial .....	46
<b>Tabla 8.</b> Eficiencia (%) de la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial.....	47
<b>Tabla 9.</b> Promedios de la eficiencia (%) de la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en humedales artificial de flujo subsuperficial.....	47
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza de los promedios de eficiencia (%) en la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial.....	48
<b>Tabla 11.</b> Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial.....	49
<b>Tabla 12.</b> Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por plantas en diferentes tiempos en humedales artificial de flujo subsuperficial.....	50
<b>Tabla 13.</b> Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres especies vegetales en diferentes tiempos en humedales artificial de flujo subsuperficial.....	51

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Procesos de fitorremediación, principalmente utilizados en medio terrestre y acuoso.....	9
<b>Figura 2.</b> Ubicación del lugar de muestreo en la provincia de Chiclayo, región Lambayeque, noviembre 2014.....	16
<b>Figura 3.</b> Ubicación de los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque.....	18
<b>Figura 4.</b> Ubicación de los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Reque, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque.....	19
<b>Figura 5.</b> Ubicación de los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Monsefú, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque.....	20
<b>Figura 6.</b> Malezas desarrolladas en campo agrícola cultivado con <i>Ipomoea batata</i> en Lambayeque, 2014.....	21
<b>Figura 7.</b> Malezas desarrolladas en campo agrícola no cultivado en Lambayeque, 2014.....	21
<b>Figura 8.</b> <i>Malvastrum coromadelium</i> en campo agrícola de Reque, Lambayeque, 2014.....	22
<b>Figura 9.</b> Plantas de <i>Lepidium virginicum</i> colectadas y acondicionadas para su transportes .....	22
<b>Figura 10.</b> Plantas acondicionadas en invernadero, Lambayeque, 2014.....	24
<b>Figura 11.</b> Variabilidad en el aspecto físico de las plantas según la resistencia al $Cr^{6+}$ .....	24
<b>Figura 12.</b> Diseño de humedal artificial del flujo subsuperficial.....	25
<b>Figura 13.</b> Vista superior del recipiente de polipropileno para el acondicionamiento del humedal de flujo subsuperficial (HAFSS).....	26
<b>Figura 14.</b> Vista lateral del recipiente de polipropileno para el acondicionamiento del humedal de flujo subsuperficial.....	26
<b>Figura 15.</b> Recipiente de polipropileno con una capa de grava acondicionada para humedal de flujo subsuperficial.....	28
<b>Figura 16.</b> Recipiente de polipropileno con una capa de arenón chino acondicionada para humedal de flujo subsuperficial.....	28
<b>Figura 17.</b> Recipientes de polipropileno con una capa de cáscara de arroz acondicionados para humedales de flujo subsuperficial.....	29
<b>Figura 18.</b> Humedales artificiales de flujo subsuperficial con recirculación de solución de $Cr^{6+}$ .....	30
<b>Figura 19.</b> Solución de $Cr^{6+}$ para el riego de humedal de flujo subsuperficial.....	30

<b>Figura 20.</b> Porcentaje de especies vegetales monocotiledóneas y dicotiledóneas colectadas en los campos agrícolas de Chiclayo, noviembre de 2014.....	35
<b>Figura 21.</b> Amarillamiento de <i>Echinochloa colona</i> (L.) Link no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	36
<b>Figura 22.</b> Amarillamiento de <i>Gynerium sagittatum</i> (Aubl) P. no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	36
<b>Figura 23.</b> Amarillamiento de <i>Cajanus cajan</i> (L) Mills. no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	37
<b>Figura24.</b> Marchitez de <i>Lepidium virginicum</i> L. no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	37
<b>Figura25.</b> Marchitez de <i>Sonchus oleraceus</i> L. no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	38
<b>Figura 26.</b> Amarillamiento y marchitez de <i>Cajanus cajan</i> (L) no tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	38
<b>Figura 27.</b> Plantas de <i>Canna indica</i> L. tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	39
<b>Figura 28.</b> Plantas de <i>Ruellia brittoniana</i> L. tolerante al Cr <sup>6+</sup> .....	39
<b>Figura 29.</b> Frecuencia (%) de especies vegetales tolerantes al Cr <sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, 2014.....	40
<b>Figura 30.</b> Frecuencia (%) de monocotiledóneas tolerantes al Cr <sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, 2014.....	40
<b>Figura 31.</b> Frecuencia (%) de dicotiledóneas tolerantes al Cr <sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, 2014.....	41
<b>Figura 32.</b> Adición de difenilcarbazida a diluciones de diferentes concentraciones de Cr <sup>6+</sup> .....	44
<b>Figura 33.</b> Coloración observada en la cuantificación de diferentes concentraciones de Cr <sup>6+</sup> .....	44
<b>Figura 34.</b> Curva patrón para determinar la concentración de Cr <sup>6+</sup> (mgL <sup>-1</sup> ) en efluentes de humedales artificiales de flujo subsuperficial.....	45

## **Agradecimiento**

*A la vida y a nuestra fé , que nos ha dado la fortaleza  
para continuar cuando a punto de caer hemos estado;  
por permitirnos culminar con éxito.*

*A nuestra familia por habernos formado con  
buenos hábitos y valores que nos ayudo  
a salir adelante en los momentos más difíciles.*

*A nuestra asesora de tesis, Dra. Carmen Carreño Farfán  
que gracias a su tiempo y dedicación,  
permitieron encaminar el trabajo  
de culminación exitosa.*

## ***Dedicatoria***

*Dedico este trabajo a todos los seres que creyeron en mí,  
Principalmente Dios, porque es el primero, que  
Me dio la vida por intermedio de mis padres.*

*A mi madre, que es el motivo y fortaleza en cada  
decisión en mi vida, que me enseña a insistir  
en cada meta trazada.*

*A mis amigos por sus palabras de apoyo en todo  
Momento del desarrollo del proyecto,  
con quienes he compartido conocimiento  
en la carrera universitaria.*

***Miriam Esthefany Burgos Tuñoque.***

## ***Dedicatoria***

*El presente trabajo de investigación es el resultado del conocimiento , ayuda y esfuerzo brindado por distintas personas para logra mi objetivo de culminar mi formación profesional*

*A mi fe budista y mis padres por ser aquellas personas que no solo me brindaron su apoyo y comprensión sino también el impulso para terminar lo que siempre empecé en mi vida .*

*A mis amigos que pusieron un granito de arena para culminación satisfactoriamente este trabajo de investigación .*

***Sindy Loren Diez Vásquez***



## I.INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales producidas por la actividad humana doméstica e industrial constituyen un problema, cuya magnitud se incrementa día a día. Las opciones más viables para su reutilización, en parte, son las plantas de tratamiento; no obstante, algunos contaminantes como los metales pesados, no son biodegradables y aunque se encuentren en bajas concentraciones, la recalcitrancia y persistencia en los cuerpos de agua implica que a través de procesos naturales como la biomagnificación, su concentración se incrementa hasta ocasionar toxicidad. El cromo es un metal pesado, que reacciona químicamente con valencias II ( $\text{Cr}^{2+}$ ), III ( $\text{Cr}^{3+}$ ) y VI ( $\text{Cr}^{6+}$ ), siendo el  $\text{Cr}^{6+}$  de mayor toxicidad y el más difícil de oxidar o eliminar en los seres vivos (Panigatti *et al.*, 2012). Es un poderoso oxidante de sustancias orgánicas, cancerígeno, desnaturaliza proteínas, precipita ácidos nucleicos, es móvil y tiene largo período de residencia en el agua.

El cromo es utilizado en diversas aplicaciones industriales como la galvanoplastia, curtido de pieles, producción de acero, industria textil, conservación de la madera, aluminio amonizado y refrigeración por agua. Las operaciones y procesos de la industria química, especialmente la curtiembre generan efluentes, con  $0,052 - 0,355 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  (Mozo, 2012), que son vertidos, inclusive sin tratamiento previo, al sistema de alcantarillado, ignorándose el límite máximo permisible (LMP) de  $0,1 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  reglamentado por el DSN<sup>o</sup> 010-2010- MINAM, para efluentes de actividad minera y  $0,05 \text{ mgL}^{-1}$  considerado como máximo permitido por las normas internacionales (Otiniano *et al.*, 2007).

El cromo puede ser removido de las aguas residuales por reducción, seguido de precipitación, intercambio iónico, osmosis inversa y adsorción; no obstante, en su mayoría las tecnologías tiene alto costo de mantenimiento y consumo energético y son ineficientes para concentraciones mínimas de Cr. La alternativa biológica para la remoción de Cr<sup>+6</sup> es la utilización de plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial HAFSS: conocidos como sistemas lecho de vegetación sumergido, VSB (vegetated submerged bed).

Los humedales artificiales son utilizados para el tratamiento de efluentes domésticos e industriales, mediante la fitorremediación. Con esta tecnología, las plantas remueven metales pesados como el Cr, así como también favorecen el crecimiento de bacterias biorremediadoras y retienen elementos sólidos en suspensión; no obstante, en el Perú no existe suficiente información, que posibilite el uso de los HAFSS en la remediación de ambientes acuáticos, ni tampoco en la región Lambayeque, se ha investigado la eficiencia de las plantas en la remoción de cromo de efluentes residuales. La utilización de plantas propias de la región para descontaminar efluentes contaminados, disminuirá el efecto dañino de los metales en los seres vivos, así como también permitirá la reutilización del agua, recurso que se está agotando rápidamente por el mal uso y desperdicio en las actividades de los humanos.

El problema planteado fue: ¿Cuál es la eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial? Para resolver este problema se planteó como objetivo general: Determinar la eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial. Los objetivos específicos fueron: Determinar la tolerancia de 36 plantas a concentraciones crecientes de Cr<sup>6+</sup>, seleccionar las seis plantas con la mayor tolerancia, diseñar un humedal artificial de flujo subsuperficial y determinar la eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por las tres plantas seleccionadas en condiciones de humedales artificiales de flujo subsuperficial. La hipótesis planteada fue: Las plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial alcanzan una eficiencia mayor de 60% en la remoción de Cr<sup>6+</sup>.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

### 2.1 Antecedentes de la investigación

La fitorremediación de cuerpos de agua empleando *Canna glauca* se investigó a escala piloto, para disminuir la contaminación por  $\text{Cr}^{6+}$  y materia orgánica. Las plantas se adaptaron en un medio acuoso por 1 mes y después se colocaron en el humedal artificial, regado con un efluente industrial, durante 15 días. En la adaptación, el porcentaje de remoción diario de  $\text{Cr}^{6+}$  fue de 46,71 % - 62,36 %. En el humedal, la mayor concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  se absorbió en las raíces, removiéndose 1264-1422 mg de  $\text{Cr}^{6+}$  durante el ensayo. Se demostró el potencial de *Canna glauca* para remediar efluentes contaminados con cromo hexavalente (Núñez, 2002).

El agua residual de las industrias curtidoras no puede ser reutilizada por su alta concentración de cromo y iones de calcio, manganeso, sodio y magnesio; no obstante, con un tratamiento adecuado podría ser incorporada en el sistema agrícola. En este contexto, se investigó la capacidad de absorción de Cr por *Eichhornia crassipes* "lirio acuático", bajo dos esquemas de inyección del agua de curtido. En el esquema I con  $4\text{L día}^{-1}$  la concentración de Cr total fue de 0,1187- 12,932  $\text{mgL}^{-1}$  y en el esquema II con  $8\text{L día}^{-1}$  fue de 0,2105-25,236  $\text{mgL}^{-1}$ . Después de 4 días, las plantas se marchitaron, concluyéndose que antes de la siembra con el lirio acuático el efluente debe ser tratado para remover iones que afectan negativamente la sobrevivencia de las plantas (Álvarez *et al.*, 2004).

La fitoextracción de Cr se investigó utilizando ácido picolínico (AP) y ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS), como inductores de actividad de *Cistus ladanifer L.*, *Brassica juncea L.* y *Salix viminalis L.* La adición de EDDS, pero no de AP incrementó significativamente ( $p < 0,005$ ) el Cr soluble en sustratos contaminados con lodos residuales de una industria de cuero. El crecimiento de *B. juncea* se vio mínimamente afectado por el contenido de Cr, mostrando índices de tolerancia superiores a 80%. Tanto *C. ladanifer* como *S. viminalis* con y sin adición de AP o EDDS presentaron un mecanismo de exclusión del Cr, acumulándose en su mayoría en la raíz, mientras que *B. juncea* lo acumuló en la parte aérea. La adición de EDDS incrementó significativamente ( $p < 0,005$ ) el Cr en las raíces de *S. viminalis* y *C. ladanifer* y en la parte aérea de *B. juncea*, constituyendo una opción viable para fitoextracción de Cr (Diez, 2008).

Con el objetivo de identificar especies vegetales tolerantes a metales pesados se colectaron muestras de raíces en una zona con vertimientos de residuales de producción de una empresa cerámica. En las especies *Cynodon dactylon L. Pers.*, *Cyperus giganteus L.*, *Typha dominguensis (Pers.) Kurth* y *Xanthosoma cubense (Rich) Schott* se detectaron metales pesados. El plomo fue el elemento de mayor acumulación en *C. dactylon* (50 939 mg kg<sup>-1</sup>MS), *C. giganteus* (15499 mg kg<sup>-1</sup>MS) y *T. dominguensis* (11 016 mg kg<sup>-1</sup>MS). De igual manera, *C. dactylon* mostró el mayor nivel de acumulación (1 090 mg kg<sup>-1</sup>MS) de zinc, diferenciándose significativamente de *T. dominguensis*. A su vez, *C. dactylon* presentó los mayores coeficientes de transferencia para el Pb (21,1) y Zn (3,1), evidenciando la translocación de los metales desde las raíces hacia la parte aérea. Se concluyó que esta especie es hiperacumuladora de Pb y Zn y es promisoría para la recuperación de suelos, mediante la fitorremediación (Sánchez, 2008).

Especies de la familia Cannacea pueden descontaminar las aguas residuales, por lo que se investigó la remoción de Cr<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup> por *Canna indica* y *Canna glauca*. En HAFSS con 0,6 m<sup>2</sup> de área, se distribuyeron 10-35 ejemplares de las plantas por m<sup>2</sup>. Trabajando con 40-1000 mgL<sup>-1</sup> de Cr se determinó que la mayor eficiencia de remoción se obtuvo con *C. indica*, alcanzándose menos de 1 mgL<sup>-1</sup> Cr<sup>+3</sup>, en soluciones con alta concentración inicial de N y P o con alta concentración de Cr<sup>+3</sup>, en ausencia de Cr<sup>+6</sup> y baja

concentración de N y P. La remoción fue más rápida con un mayor número de plantas por unidad de área y a menor altura del líquido. Independientemente del estado de oxidación, el 90 % del Cr se almacenó en la raíz y el 10 % restante en el tallo y hojas (Auxilia, 2009).

Los humedales artificiales constituyen una alternativa para la remoción de contaminantes de aguas residuales. En este contexto, se investigó un sistema piloto para la fitorremediación de efluentes de explotaciones porcinas. En un primer ensayo, con los medios filtrantes grava, vermiculita, arena, arenón y cáscara de arroz, se sembraron diez malezas, que inicialmente se regaron con agua y una solución nutritiva y después con agua residual, seleccionándose los filtrantes vermiculita y arena y las plantas *Hedychium coronarium*, *Brachiaria mutica* y *Brachiaria arrecta*. En un segundo ensayo, se construyeron tres unidades piloto de HAFSS, determinándose remoción de 80 % en DBO, 50 % en los sólidos suspendidos totales y 90 % en el nitrógeno amoniacal. Se concluyó que los humedales son promisorios para la remoción de contaminantes en efluentes agropecuarios (Arias *et al.*, 2010).

Con el objetivo de investigar la remoción de cromo por *Vetiveria zizanioides* “vetiver”, en una curtiembre se colectaron lodos residuales, con un contenido promedio de  $21\ 000\ \text{mgK}^{-1}\text{Cr}$ . Las plantas fueron cultivadas en una parcela libre de contaminantes y luego se sembraron en macetas plásticas con 10 Kg de lodo o 5 Kg de lodo + 5 kg de compost, según el diseño experimental, correspondiente a cuatro tratamientos, T1 (lodo), T2 (lodo + vetiver), T3 (lodo + compost + vetiver) y T4 (compost + vetiver). La concentración de Cr disminuyó 30 % en todos los tratamientos después de 15 días de la siembra y 9 % adicional, después de 45 días. La absorción de Cr en T2 fue mayor, a nivel de tallos y en T3 a nivel de la rizósfera; sin embargo, el Cr en el lodo no disminuyó lo suficiente para ser utilizado como abono en sistemas agrícolas (Torres *et al.*, 2010).

La fitorremediación es el proceso que emplea la vegetación para el tratamiento de la contaminación en el agua, suelo y aire. Con el objetivo de investigar el papel de las plantas en la descontaminación se realizó una revisión bibliográfica de *Heliconia psittacorum*, como planta modelo de

ambientes tropicales. En matrices líquidas contaminadas con Cd, Pb, Hg y Cr<sup>6+</sup> se eliminó más del 90 % de estos metales, no se presentaron procesos de antagonismo o inhibición de las especies por la absorción de los metales y las plantas no mostraron signo alguno de daño, como hojas amarillas o clorosis. Estas plantas traslocaron Hg<sup>2+</sup> y Cr<sup>6+</sup> desde la raíz a los tejidos aéreos de tallos y hojas, característica importante en el proceso de fitorremediación, concluyéndose que esta especie es acumuladora de metales pesados y de alto potencial en sistemas de humedales construidos (Peña *et al.*, 2013).

## 2.2 Metales pesados: Cromo

Metal pesado es todo elemento que tiene una alta densidad, igual o superior a 5 gcm<sup>-3</sup> o un número atómico superior a 20, excluyendo a los metales alcalinos y alcalinos térreos, en mínimas concentraciones puede dañar a los seres vivos, no es biodegradable y tiende a acumularse en la cadena alimentaria (Celis *et al.*, 2005). Su presencia en la corteza terrestre es inferior a 0,1 %, casi siempre menos de 0,01 % (Babel y Dacere, 2006).

En los metales pesados se distinguen dos grupos: Oligoelementos o micronutrientes, requeridos en pequeñas cantidades por plantas y animales y necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasada cierta concentración se vuelven tóxicos, considerándose en este grupo el cobalto, cromo, cobre, molibdeno, manganeso, níquel y zinc. También se incluyen el arsénico, boro y selenio, que aunque son metales ligeros o no metales presentan origen y comportamiento similar a los oligoelementos. Un segundo grupo está constituido por los metales pesados sin función biológica conocida, tóxicos, con la propiedad de biomagnificación, considerándose el cadmio, mercurio, plomo, antimonio y bismuto (Yagmenthowsky, 2011).

El cromo es un metal pesado que reacciona químicamente con valencias II, III y VI (Cr<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>, Cr<sup>+6</sup>), siendo el Cr<sup>+6</sup> de gran poder tóxico y el más difícil de oxidar o eliminar de los seres vivos. El Cr<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup> o cromo hexavalente son desnaturalizadores de proteínas, precipitan ácidos nucleicos y tienen acción cancerígena en pulmones y aparato digestivo. El Cr<sup>+6</sup> es un poderoso oxidante de sustancias orgánicas y por tanto peligrosas para los seres vivos. El ácido crómico y los cromatos producen intoxicaciones agudas por vía digestiva. El

envenenamiento agudo por ingestión produce vértigo, sed intensa, dolor abdominal, vómito, oliguria o anuria. La muerte se produce por uremia. La inhalación de vapores de Cr por largos periodos, causa ulceración, indolora, hemorragias y perforación del tabique nasal, acompañado de secreción nasal fétida. En las muertes por envenenamiento agudo se diagnostica nefritis hemorrágica (Otiniano *et al.*, 2007).

El Cr existe con una amplia gama de estados de oxidación desde 2 a +6, siendo dominante el Cr hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) y trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ). El  $\text{Cr}^{6+}$  como cromato ( $\text{CrO}_4^{-2}$ ) y dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ ) presenta niveles de toxicidad más elevados, comparados con otros estados de valencia. Además de ser perjudicial, es móvil y tiene elevado periodo de residencia en las aguas superficiales y subterráneas, afectando la salud de los humanos animales y plantas. El  $\text{Cr}^{3+}$  en cambio, es mucho menos nocivo y se puede separar, precipitándolo como hidroxilo (Panigatti *et al.*, 2012).

El cromo puede ser removido por reducción, precipitación química, absorción, intercambio iónico y por oxidación del  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$ , que posteriormente es precipitado con soluciones básicas a  $\text{Cr}(\text{OH})_3$ . Como agentes reductores se han aislado microorganismos resistentes a  $\text{Cr}^{6+}$  como *Staphylococcus saprophyticus*, *Candida sp.*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.* y *Aspergillus niger*. Se han utilizado también microalgas *Scenedesmus obliquus* (Pellón *et al.*, 2003) residuos de naranja, corteza de árboles, cáscaras de avellana, cáscaras de mandarina naranja y tamarindo (Acosta *et al.*, 2010) y especies de la familia Cannaceae (Auxilia, 2009).

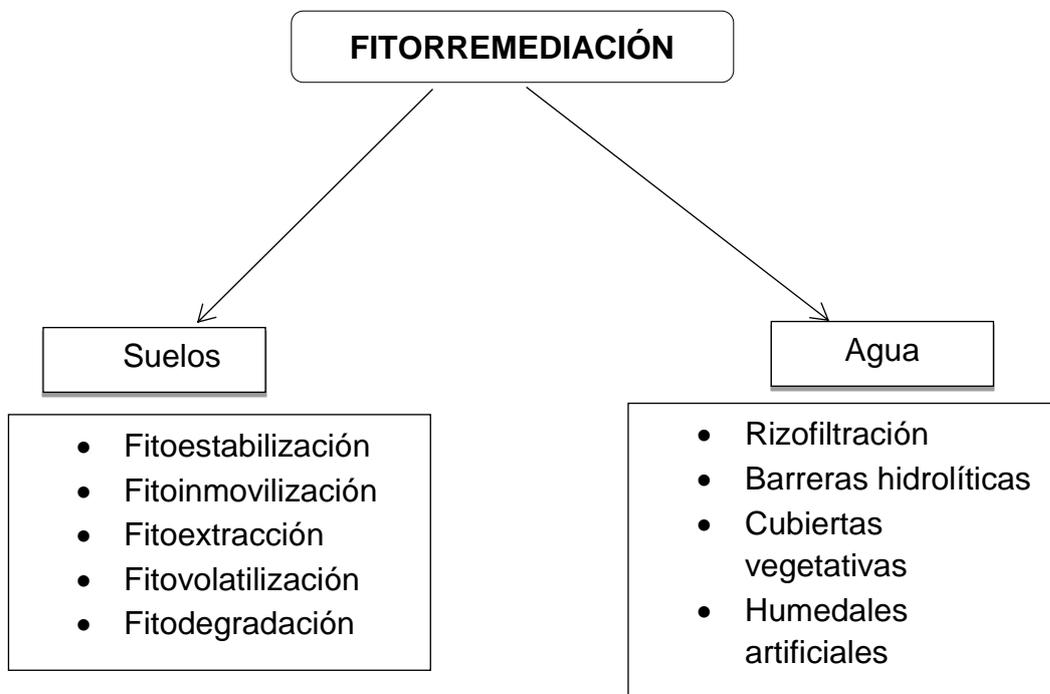
### **2.3 Fitorremediación**

Los metales pesados después de ser incorporados al suelo pueden seguir cuatro vías. i) Retención, ya sea disueltos en la solución del suelo o bien fijados por el proceso de absorción, complejación y precipitación; ii) Absorción por las plantas e incorporación en las cadenas tróficas; iii) Volatilización hacia la atmósfera e iv) Inmovilización hacia las aguas superficiales o subterráneas. Los metales pesados no pueden ser degradados, por lo que se busca disminuir su toxicidad a través de distintas transformaciones. El cambio en el estado de oxidación permite que metales como el uranio (VI), selenio (VI), cromo (VI),

molibdeno (VI) y arsénico (V), con alto estado de oxidación, solubles, móviles, reactivos y tóxicos pasen a menor estado, volviéndose insolubles, menos disponibles y menos tóxicos. El cambio de compuesto orgánico a inorgánico o viceversa disminuye la toxicidad, como el caso del mercurio que es más tóxico en forma de metil mercurio, que cuando se encuentra en un compuesto inorgánico. Asimismo, los metales pesados pueden ser movilizados e inmovilizados para extraerlos desde matrices sólidas o de soluciones respectivamente (Yagnennthwsty, 2010).

En las ecotecnologías de tratamiento como el caso de los humedales artificiales, plantas y microorganismos participan activamente en la eliminación de contaminantes patógenos, nutrientes, químicos, orgánicos e inorgánicos. Las plantas secuestran los nutrientes y los almacenan en raíces y brotes o para el caso de los metales pesados, los acumulan en otros tejidos. Los mecanismos de transformación o eliminación de contaminantes son: sedimentación, precipitación, transformación química, absorción, cambio iónico en las plantas, biodegradación, ruptura y asimilación de nutrientes. Los procesos de fitorremediación (Figura 1), incluyen mecanismos de extracción del contaminante del suelo o del agua, la concentración de éstos en el tejido vegetal, su transformación por medio de procesos fisiológicos o de facilitamiento por interacciones bióticas y la volatilización o transpiración del contaminante por parte de las plantas (Peña *et al.*, 2013).

La inmovilización de un contaminante del suelo o el agua mediante la absorción, precipitación y acumulación por raíces es definida como fitoestabilización. La planta puede alterar las condiciones del medio, al convertir metales de un estado de oxidación soluble a uno insoluble. Esta estrategia es utilizada en tratamientos de suelo, sedimentos y lodos y es menos disruptiva, que otras tecnologías, además de tener menor costo; sin embargo, tiene como desventaja que los contaminantes permanecen en el suelo y las plantas necesitan mantenimiento a largo plazo. *Brassica juncea*, *Agrostis capillis* y *Festuca rubra* son usadas para reducir la filtración de As, Cd, Cr, Co, Hg, Pb y Zn en suelos contaminado. En la fitoestabilización las plantas tolerantes se usan para reducir la movilidad de los contaminantes y evitar el pasaje a capas subterráneas o al aire (Peña *et al.*, 2013)



**Figura 1.** Procesos de fitorremediación, principalmente utilizados en medio terrestre y acuoso.

La fitoextracción es la captación de contaminantes por las raíces de las plantas y su translocación y concentración en el interior, principalmente la parte aérea; sin embargo, el crecimiento lento de las plantas hiperacumuladoras lleva a una baja producción de biomasa, con sistema radicular poco profundo y la biomasa no se puede utilizar como alimento para los animales. Las plantas de las familias *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lamiaceae* o *Scrophulariaceae* son ejemplos de plantas utilizadas en estos procesos para metales como Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Pb, Ni, Zn, metaloides como As, Se, radionucleótidos y no metales como el boro (Arias *et al.*, 2010; Peña *et al.*, 2013).

La captación y transpiración de un contaminante modificado a la atmósfera, se conoce como fitovolatilización. Las plantas captan y modifican los contaminantes o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración (Arias *et al.*, 2010). La ventaja de este proceso es que los contaminantes pueden ser transformados en formas menos tóxicas e incluso pueden ser sujeto de procesos degradativos más rápidos y efectivos; sin embargo, también puede liberar contaminantes o metabolitos dañinos a la atmósfera o incluso pueden acumularse en la vegetación, en las frutos o en la madera. *Medicago sativa*, *Brassica juncea*, *Brassica napus* y *Arabidopsis thaliana* son utilizadas para modificar contaminantes orgánicos como solventes clorinados (Arias *et al.*, 2010; Cubillos, 2011).

La fitodegradación es la transformación de un contaminante por medio de compuestos producidos por las plantas. Las plantas captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos, generando subproductos menos tóxicos o no tóxicos. La degradación del contaminante orgánico es facilitada por la actividad microbiana de la zona radicular y se denomina rizodegradación. Asimismo, las raíces pueden modificar las condiciones del suelo, al aumentar la entrada del aire y regular el contenido de humedad, propiciando condiciones no favorables para los microorganismos. Este sistema de bajo costo, tiene la ventaja que la transformación del contaminante ocurre in situ; sin embargo, puede tomar un tiempo el desarrollo de una zona radicular extensa. *Morus rubra*, *Mentha spicata*, *Medicago sativa*, *Agropyrum desertorum*, *Oryza sativa* y *Typha latifolia* son algunas de las plantas utilizadas para reducir pesticidas, surfactantes, solventes clorados, pentadeclorofenol, hidrocarburos aromáticos policíclicos y de petróleo en general (Arias *et al.*, 2010; Peña *et al.*, 2013).

La rizofiltración consiste en la absorción de los contaminantes dentro de las raíces, mediante procesos bióticos y abióticos. Los exudados de las raíces pueden precipitar algunos metales. Los contaminantes son eliminados luego de ser inmovilizados o acumulados en las plantas. Esta técnica es comúnmente utilizada con suelos donde el contaminante debe estar en solución, para ser absorbido por el sistema vegetal. Las plantas requieren un soporte y pueden ser usados in situ o ex situ. *Eichhornia crassipes*, *Hydrocotyle umbellata*, *Lemna minor* y *Azolla pinnata* son plantas acuáticas utilizadas para los contaminantes Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Cr y radionucleótidos (Torres *et al.*, 2010; Peña *et al.*, 2013).

#### **2.4. Humedales en el tratamiento de aguas residuales**

El tratamiento de aguas residuales, implica procesos físicos, químicos y biológicos, en cuatro etapas. El pretratamiento consiste en el desbaste, eliminación de arena y desengrasado. El tratamiento primario tiene como objeto la remoción de los sólidos suspendidos y DBO. El tratamiento secundario o biológico convierte la materia orgánica fina, coloidal y disuelta en flóculos sedimentables y sólidos inorgánicos. El tratamiento terciario aumenta la calidad

del efluente, antes que éste sea descargado al ambiente receptor. En los tratamientos secundario y terciario de aguas contaminadas con metales pesados, se utilizan los humedales artificiales (Estrada, 2010).

El termino humedal (*wetland*, en inglés) se usa para definir áreas con tres componentes típicos: Presencia de agua (el área está inundada permanentemente o periódicamente, con una profundidad menor de 1m), suelos característicos clasificados como hídricos y vegetación en la que prevalecen plantas macrófitas adaptadas a las condiciones hidrológicas y del suelo. Los humedales son áreas caracterizadas por tener un suelo saturado de agua y una comunidad viviente (plantas y animales), adaptadas a la vida acuática o a un suelo saturado. La definición más ampliamente conocida y aceptada es expuesta como: “extensiones de marismas, pantanos, turberas y aguas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estacionadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluyendo las extensiones con agua marina, cuya profundidad con marea baja no excede de 6 m (Arias *et al*, 2010; Estrada, 2010).

Los humedales artificiales o construidos son una tecnología con potencial para el tratamiento de aguas contaminadas. Son sistemas pasivos de depuración construidos con agua, poco profundos, normalmente con menos de 1m de profundidad, plantas propias de zonas húmedas y en los que los procesos de descontaminación se realizan simultáneamente por componentes físicos, químicos y biológicos. Los humedales pueden ser de dos tipos: aerobios con vegetación plantada a poca profundidad y suelos relativamente impermeables-arcilla o escombros de minas y humedales anaerobios, con vegetación plantada a profundidad y mezcla de sustratos permeables como suelo, turba, compost, grava, arena, a menudo cononado con una capa impermeable en el fondo. En la depuración de aguas residuales se consideran humedales que usan macrófitas o plantas que se ven a simple vista, en contraposición a las micrófitas o microalgas y por tanto las lagunas no son consideradas como humedales (Estrada, 2010).

Existen dos tipos de humedales artificiales: de flujo superficial o de superficie libre de agua o FWS, "Free Water System" y de flujo subsuperficial o

sistemas lecho de vegetación sumergida o SFS, HFSS, "Subsurface Flow System" o VSB, vegetated submerged beds. En los FWS las plantas acuáticas están enraizadas en el fondo del humedal y el flujo de agua se hace a través de las hojas y tallos de las plantas. En los HFSS la lámina de agua no es visible y el flujo atraviesa un lecho relleno con arena, grava o suelo, donde crecen las plantas que solo tienen las raíces y rizomas en contacto con el agua (Álvarez *et al.*, 2004; Arias *et al.*, 2010; Estrada, 2010).

Los humedales de flujo subsuperficial consisten en canales con la superficie del agua expuesta a la atmósfera y en el fondo constituido por suelo relativamente impermeable, vegetación emergente y niveles de agua pocos profundos (0,1 - 0,6 m). El tratamiento se produce durante la circulación lenta del agua a través de tallos y raíces de la vegetación. Ese sistema puede ser con macrófitas flotantes y sumergidas. Los sistemas con macrófitas flotantes están formados por grandes lagunas, con bajos niveles de agua y provistos de plantas macrófitas que flotan libremente en la superficie. Sus raíces sumergidas tienen un buen desarrollo. Los sistemas con macrófitas sumergidas son lagunas con bajo nivel de agua y plantas macrófitas cuyo tejido fotosintético está totalmente sumergido. Estas plantas solo crecen bien en aguas con oxígeno disuelto, por lo cual no se utilizan para aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, ya que la descomposición microbiana provoca condiciones anóxicas (Arias *et al.*, 2010).

Los humedales de flujo subsuperficial son sistemas con macrófitas emergentes, que consisten de un filtro biológico relleno de un medio poroso (piedra volcánica, grava) en el cual las plantas se siembran en la superficie del lecho filtrante y las aguas residuales pretratadas atraviesan de forma horizontal o vertical el lecho filtrante. El nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio granular. Se clasifican en humedales artificiales de flujo horizontal y de flujo vertical, según la manera como las aguas residuales pretratadas atraviesan el lecho filtrante. En los humedales de flujo vertical las aguas se distribuyen de manera uniforme e intermitente sobre la superficie del lecho filtrante y luego percolan hacia la zona de recolección (Arias *et al.*, 2010; Estrada, 2010).

En los humedales de flujo horizontal las aguas residuales fluyen lentamente desde la zona de distribución en la entrada de la pila, en una trayectoria horizontal a través del lecho filtrante, hasta la superficie de recolección del efluente. Presentan como ventajas: mínima presencia de plagas, ausencia de malos olores, facilidad de operación, se puede adicionar nuevas unidades y las aguas obtenidas se pueden reutilizar. Los procesos en la depuración de aguas residuales son la eliminación de sólidos en suspensión por filtración, a través de los medios sobre las que crecen las raíces, eliminación de materia orgánica por acción de bacterias aerobias favorecidas por la aireación a través de las raíces, eliminación de nitrógeno por absorción directa de las plantas que generan procesos de nitrificación-desnitrificación, eliminación de fósforo por transformación directa que las plantas realizan, fenómenos de adsorción en los componentes del suelo, eliminación de patógenos por adsorción sobre el sustrato, efecto deletéreo de los antibióticos producidos por las raíces y por acción depredadora de bacterias y protozoos (Arias *et al.*, 2010; Peña *et al.*, 2013).

Los HAFSS están compuestos de un medio filtrante, de un tipo de vegetación y microorganismos asociados, cada uno desempeñando funciones que favorecen el tratamiento del agua residual, a través de la captura y fijación de la materia orgánica y su posterior incorporación a los procesos fisiológicos de las plantas y microorganismos. Los procesos aerobios predominan cerca de la rizósfera, en la cual se presenta el crecimiento microbiano más importante de la superficie del medio de soporte. Entre las plantas comúnmente usadas en los HAFSS se encuentran especies de la familia Brassicaceae y plantas acuáticas de los géneros *Typha*, *Juncus*, *Lemna* y *Eichhornia* (Peña *et al.*, 2013).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Material biológico

El material biológico estuvo constituido por plantas cultivadas y no cultivadas de la provincia de Chiclayo, región de Lambayeque.

##### 3.1.2 Población y muestra de estudio

El criterio de selección de las plantas fue su utilización para la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por otros investigadores y la disponibilidad y facilidad de transplante en las condiciones del trabajo de investigación. De esta manera, la población estuvo constituida por plantas cultivadas y no cultivadas de campos agrícolas comerciales de la provincia de Chiclayo, región Lambayeque y como muestra se investigaron 36 especies de plantas, colectadas en noviembre de 2014. El número de muestras fue calculado (Vásquez *et al.*, 2012) tomando en cuenta una prevalencia mayor de 60% (Anexo 1), determinada por los autores en un estudio piloto.

#### 3.2 Métodos

##### 3.2.1 Variables en estudio

**Variable independiente:** Plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial.

**Variable dependiente:** Eficiencia de remoción de  $\text{Cr}^{6+}$ .

##### 3.2.2 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

El trabajo de investigación, se ejecutó en tres fases. En la primera fase, se recopiló información bibliográfica sobre plantas existentes en la provincia de Chiclayo que podían ser utilizadas para la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$ . En la segunda fase de la investigación, se determinó la tolerancia de plantas a concentraciones crecientes de  $\text{Cr}^{6+}$ . En la tercera fase experimental se

investigó la eficiencia de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por tres plantas seleccionadas, en condiciones de HAFSS, bajo un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial (Hernández *et al.*, 2010).

### **3.2.3 Recopilación de información sobre plantas utilizadas para la remoción de $\text{Cr}^{6+}$**

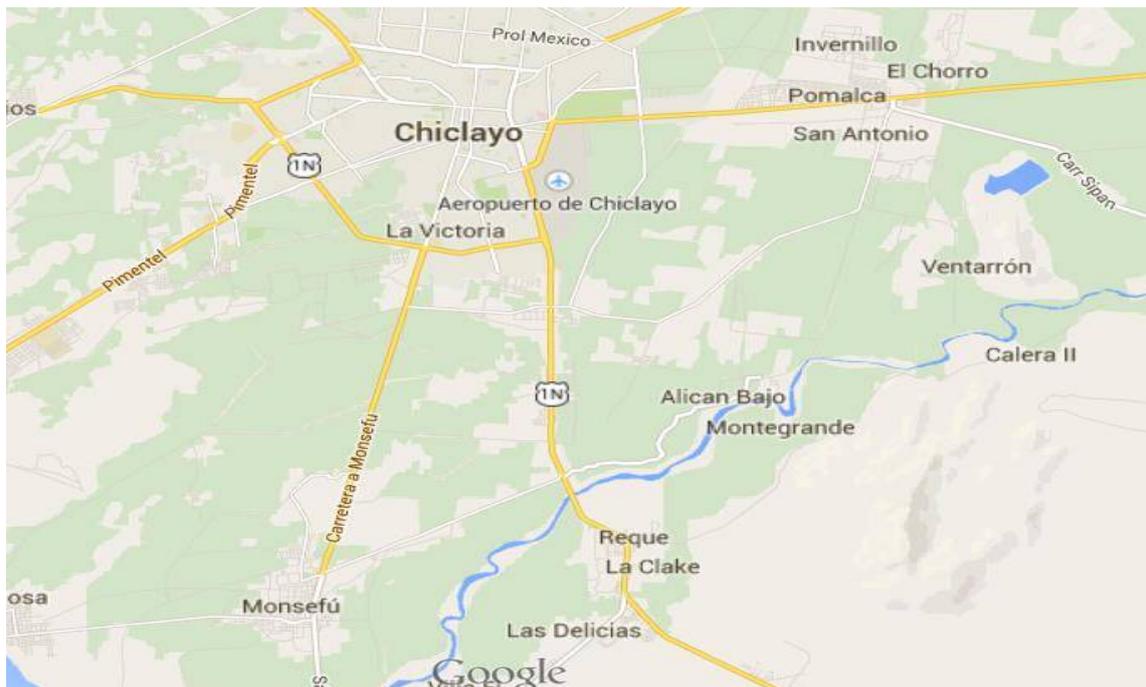
Con el objetivo de recopilar información sobre plantas utilizadas para la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$ , se realizó una revisión de artículos científicos publicados y luego se consultó y se realizaron visitas de campo con un profesional especialista para determinar las especies que se encontraban en la provincia de Chiclayo.

### **3.2.4 Lugar de muestreo**

En campos agrícolas comerciales, cultivados y no cultivados de la provincia de Chiclayo, se colectaron seis ejemplares de 36 especies de plantas seleccionadas. Los distritos muestreados fueron: Reque, Monsefú y Pomalca (Figura 2), provincia de Chiclayo, región Lambayeque, determinando la posición de los puntos de muestreo (Tabla 1) con un GPS GARMIN e Trex Vista HCx (Figuras 3, 4, 5). La provincia de Chiclayo está ubicada a  $06^{\circ} 46' 19''$  latitud sur,  $79^{\circ} 50' 45''$  longitud oeste y 30 msnm (Municipalidad Provincial de Chiclayo 2014).

### **3.2.5 Colección y acondicionamiento de plantas**

En los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados (Figuras 6, 7, 8) se realizó una inspección visual para determinar la presencia de las plantas investigadas. A continuación, con una palana se extrajo la raíz y suelo adherido de seis plantas de cada especie seleccionada, se depositaron individualmente en bolsas de polietileno de 25x17cm (Figuras 9) y se llevaron inmediatamente al invernadero de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en Lambayeque.



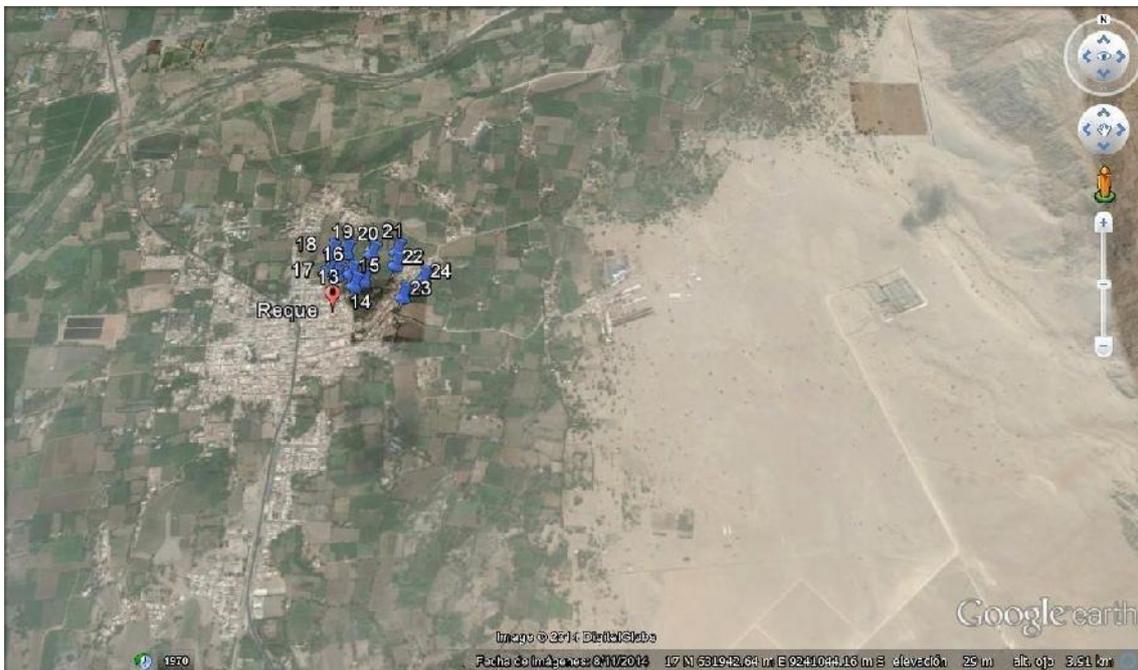
**Figura 2** .Ubicación del lugar de muestreo en la provincia de Chiclayo, región Lambayeque, noviembre 2014. <https://www.google.com.pe/maps/@-6.8129939,-79.8371667,12z?hl=es>

**Tabla 1.** Posición de los campos agrícolas comerciales cultivados y no cultivados, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en la provincia de Chiclayo, Región Lambayeque – noviembre 2014

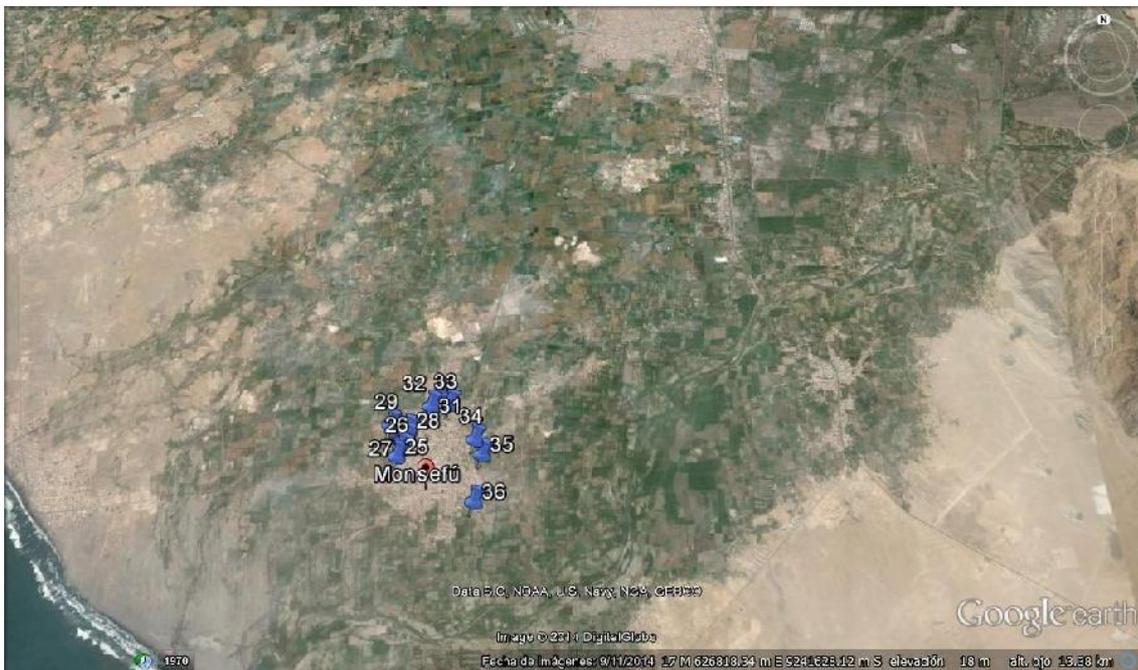
<b>Punto</b>	<b>Posición</b>	<b>Punto</b>	<b>Posición</b>
1	17M 634642 9251646	19	17M 630878 9241414
2	17M 634654 9251755	20	17M 630996 9241404
3	17M 634624 9251881	21	17M 631108 9241417
4	17M 634731 9251863	22	17M 631107 9241347
5	17M 634862 9252095	23	17M 631153 9241184
6	17M 636237 9252011	24	17M 631237 9241272
7	17M 636279 9251976	25	17M 624173 9239485
8	17M 636265 9251930	26	17M 624220 9239610
9	17M 636294 9251883	27	17M 624315 9239753
10	17M 636299 9251816	28	17M 624309 9239886
11	17M 636350 9251853	29	17M 624038 9239977
12	17M 636429 9251833	30	17M 624159 9239794
13	17M 630931 9241242	31	17M 624610 9240270
14	17M 630972 9241268	32	17M 624742 9240484
15	17M 630910 9241302	33	17M 624880 9240295
16	17M 630847 9241296	34	17M 625274 9239742
17	17M 630806 9241324	35	17M 625386 9239512
18	17M 630811 9241412	36	17M 624067 9239585



**Figura 3.** Ubicación de los campos agrícolas comerciales, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque, noviembre 2014.



**Figura 4.** Ubicación de los campos agrícolas comerciales, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Reque, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque – noviembre 2014.



**Figura 5.** Ubicación de los campos agrícolas comerciales, donde se realizó el muestreo de especies vegetales en el distrito de Monsefú, provincia de Chiclayo, Región Lambayeque, noviembre 2014.



**Figura 6.** Malezas desarrolladas en campo agrícola cultivado con *Ipomoea batata* en Lambayeque, 2014.



**Figura 7.** Malezas desarrolladas en campo agrícola no cultivado en Lambayeque, 2014.



**Figura 8.** *Malvastrum coromadelium* en campo agrícola de Reque, Lambayeque, 2014.



**Figura 9.** Plantas de *Lepidium virginicum* colectadas y acondicionadas para su transporte.

En el invernadero, las plantas colectadas se acondicionaron en macetas de arcilla de 4 kg de capacidad, conteniendo 2 kg de una mezcla de suelo: arena: compost (2:1:1), previamente solarizada, durante 30 días y se agruparon adecuadamente por especie (Figura 10). Las plantas se regaron con agua potable almacenada previamente por 24 horas según sus requerimientos.

### **3.2.6 Determinación de la tolerancia de plantas a concentraciones crecientes de Cr<sup>+6</sup>**

La tolerancia al Cr<sup>+6</sup> de las plantas seleccionadas y previamente adaptadas a condiciones de invernadero (Figura 10), se determinó regando las plantas con una solución de dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), pH cercano a la neutralidad para favorecer la normalidad y disponibilidad de cromo hexavalente (Diez, 2008) (Anexo 4). El riego se realizó con una solución 1 ppm Cr<sup>+6</sup>, por una vez la semana 1, dos veces la semana 2 y tres veces la semana 3, completándose los riegos requeridos por semana con agua potable declorada (Anexo 5). A partir de la semana 4, se realizaron tres riegos y la concentración se incrementó geométricamente por semana (1, 10, 100 y 1 000 ppm de Cr<sup>+6</sup>).

La tolerancia al Cr<sup>+6</sup> se calificó por el aspecto físico y supervivencia de las plantas en comparación con los testigos (Figura 11). Se consideró la coloración, turgencia, número de plantas marchitas y muertas que fueron registradas semanalmente (Anexo 6). Las plantas en las que la coloración y turgencia no se vieron marcadamente afectadas fueron consideradas resistentes al Cr<sup>+6</sup> y se seleccionaron para la siguiente fase de la investigación. Las especies vegetales con 50% o más de las plantas muy afectadas o muertas se descartaron como tolerante al Cr<sup>+6</sup>.

### **3.2.7. Diseño de un humedal artificial de flujo subsuperficial**

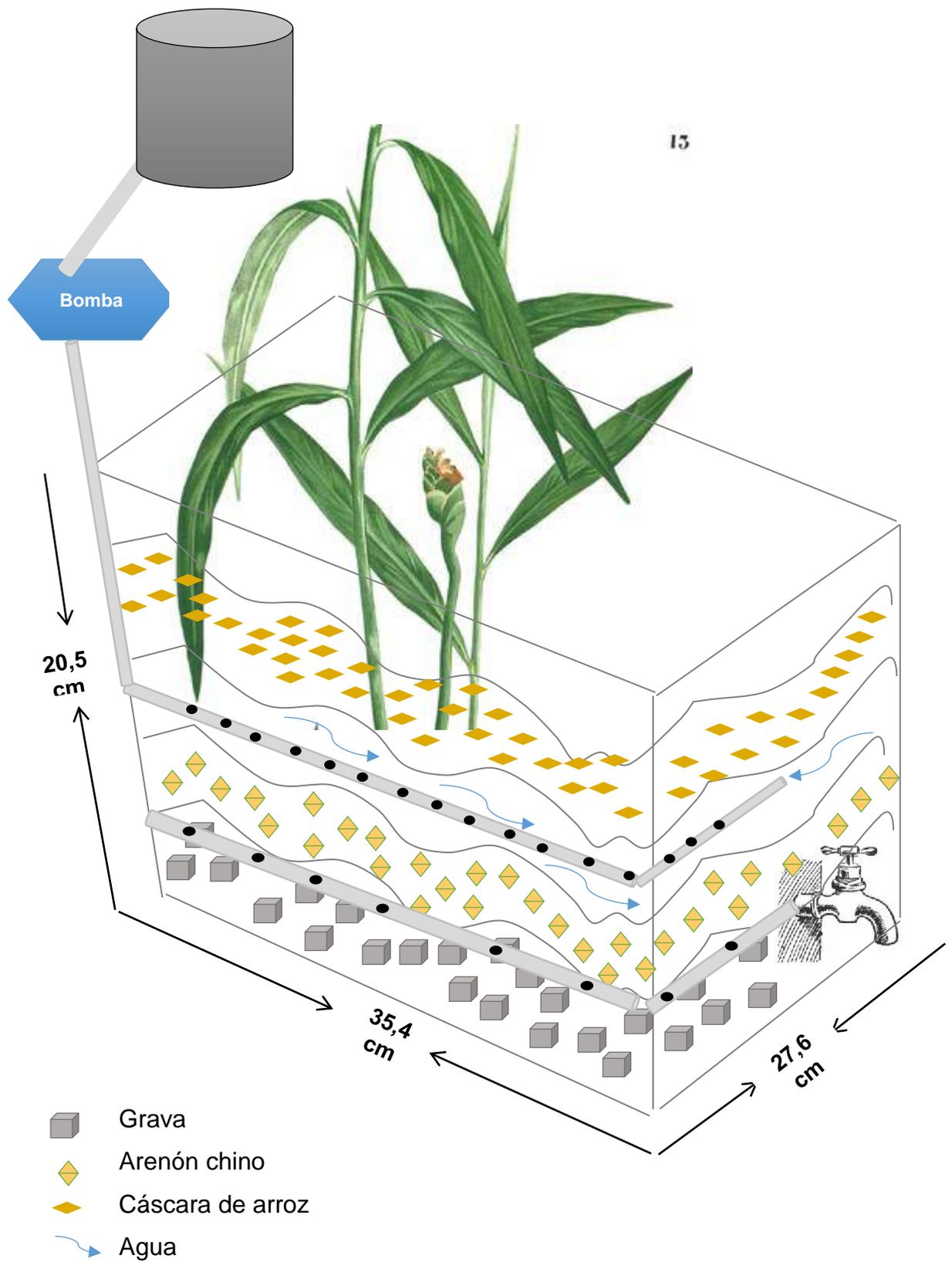
Los HAFSS<sup>4</sup> estuvieron constituidos por recipientes de polipropileno (Figuras 12, 13, 14), de 35,4 cm de longitud x 27,6 cm de ancho x 20,5 cm de altura, con una capacidad de 11 L, donde se diferenciaron inicialmente cinco capas: grava, arenón chino, cáscara de arroz, agua y espacio libre.



**Figura 10.** Plantas acondicionadas en invernadero, Lambayeque 2014.



**Figura 11.** Variabilidad en el aspecto físico de las plantas según la resistencia al  $\text{Cr}^{+6}$ .



**Figura 12.** Diseño de humedal artificial de flujo subsuperficial.



**Figura 13.** Vista superior del recipiente de polipropileno para el acondicionamiento de humedal de flujo subsuperficial (HASFF).



**Figura 14.** Vista lateral del recipiente de polipropileno para el acondicionamiento del humedal de flujo subsuperficial.

En el fondo del HAFSS, como medio de soporte se depositó una primera capa de 7,9 cm de grava con un diámetro promedio 0,25 pulgadas (Figura 15), una segunda capa de 5,5 cm de arenón chino (diámetro promedio 0,031 pulgadas) (Figura 16) y una tercera capa de 3,9 cm de cáscaras de arroz (Figura 17), previamente lavadas y deshidratadas. El efluente se colectó a través de un tubo de 2 cm diámetro, perforado (cada 5 cm) en toda su longitud, depositado sobre la grava a 5 cm de la base y conectado en uno de sus extremos hacia un caño de polipropileno para la toma de muestras.

En el centro del HAFSS se realizó un agujero que llegó hasta la base del arenón chino, donde se transplantaron las plantas seleccionadas, a razón de un espécimen por humedal. Inmediatamente después se vertieron 8 L de agua declorada, cantidad suficiente para dejar libre los 3,2 cm superiores del humedal. Transcurridas 48 horas después del transplante una solución de  $\text{Cr}^{6+}$  ingresó por la cara lateral opuesta al caño de toma de muestra a través de una cánula de plástico de 0,25 de diámetro, agujerada (4 mm de diámetro) y depositada horizontalmente en la parte media de la capa de cáscara de arroz. La solución fue recirculada con una bomba monofásica de agua de 0,25 hp (1/4 hp), succión de 1'' y descarga 3/4''. A su vez, la bomba estuvo unida al alimentador, constituido por un balde de plástico de 5 L de capacidad (Figuras 18, 19).

### **3.2.8 Determinación de la eficiencia de la remoción de $\text{Cr}^{6+}$ por tres plantas en condiciones de HAFSS**

La eficiencia de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  en HAFSS se determinó en un ensayo bajo un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial 3 x 3. Los factores fueron dos, cada uno en tres niveles. El factor A correspondió a las especies vegetales *Canna indica*, *Cynodon dactylon* y *Ruellia brittoniana*. El factor B fue el tiempo con 72, 144 y 216 horas. Los tratamientos fueron nueve, cada uno con tres repeticiones y un total de 27 unidades experimentales.

En el bioensayo las plantas se acondicionaron en los humedales y cada 3 días se completó el nivel con aproximadamente 2 L de agua declorada las dos primeras semanas, 10 ppm  $\text{Cr}^{6+}$  la tercera semana, 100 ppm  $\text{Cr}^{6+}$  la cuarta semana y 1000 ppm  $\text{Cr}^{6+}$  la quinta y sexta semana. De esta manera, las plantas se adaptaron a 1000 ppm  $\text{Cr}^{6+}$  en el HAFSS durante 6 semanas.



**Figura 15.** Recipiente de polipropileno con una capa de grava acondicionada para humedal de flujo subsuperficial.



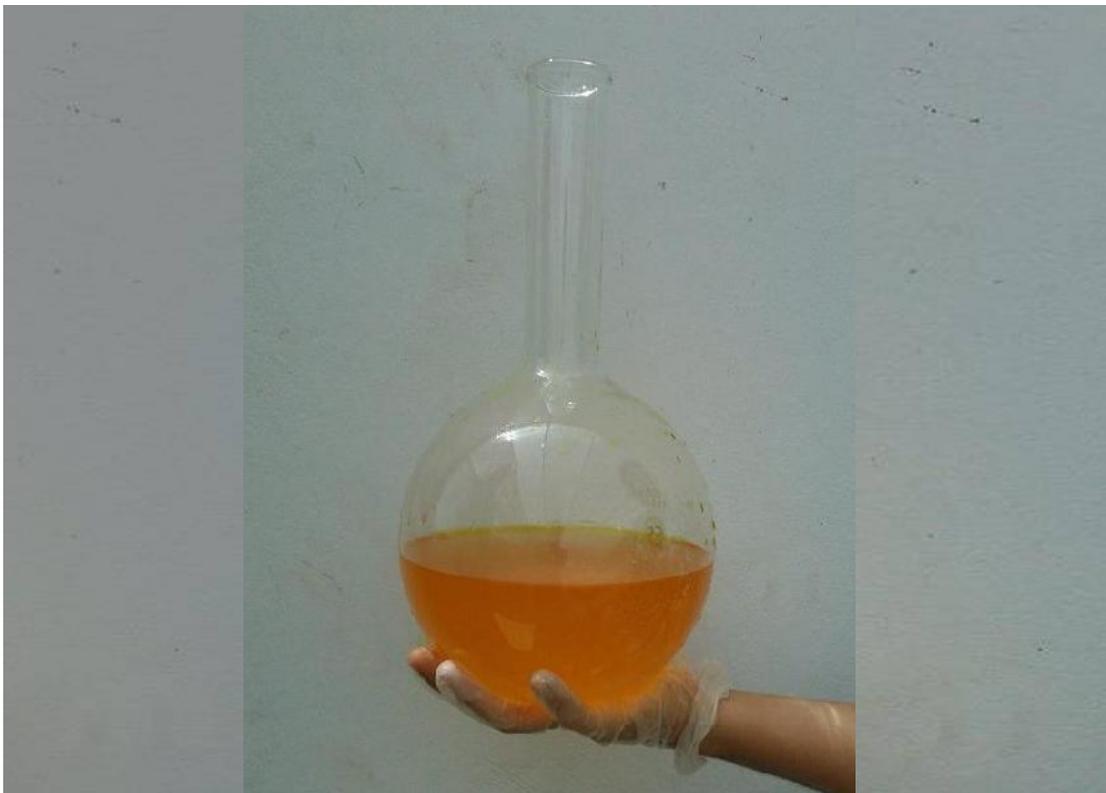
**Figura 16.** Recipiente de polipropileno con una capa de arenón chino acondicionada para humedal de flujo subsuperficial.



**Figura 17.** Recipientes de polipropileno con una capa de cáscara de arroz acondicionados para humedales de flujo subsuperficial.



**Figura 18.** Humedales artificiales de flujo subsuperficial con recirculación de solución de  $\text{Cr}^{6+}$ .



**Figura 19.** Solución de  $\text{Cr}^{6+}$  para el riego del humedal de flujo subsuperficial.

Después del período de adaptación en los HAFSS, se agregaron 2 L de una solución de 1000 ppm  $\text{Cr}^{6+}$  y se tomaron muestras representativas de 55 mL de los efluentes a las 0 horas y cada 3 días, durante 9 días, para cuantificar la concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  mediante el método colorimétrico de la 1-5 difenilcarbazida descrito por Rodier & Rodi, 2005 (Anexo 9).

La eficiencia (%) de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  se calculó con la fórmula mencionada por Chambergo & Herrera (2009):

$$E = \frac{Si - Sf}{Si} \times 100$$

E: Eficiencia de degradación de  $\text{Cr}^{6+}$

Si: Concentración inicial de  $\text{Cr}^{6+}$

Sf: Concentración final de  $\text{Cr}^{6+}$

### **3.3 Análisis estadístico de datos**

Los datos obtenidos fueron ordenados en tablas y figuras que permitió determinar la eficiencia de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial. Con los valores de eficiencia de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  se realizó el análisis de varianza para investigar las diferencias entre los tratamientos y la prueba múltiple de Tukey para determinar su significancia. En el presente trabajo se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Microsoft Office Excel Versión 2010.

## **IV. RESULTADOS**

### **4.1 Plantas de la región Lambayeque seleccionadas para la remoción de Cr<sup>6+</sup>**

Las 36 especies vegetales de la provincia de Chiclayo investigadas en la remoción de Cr<sup>6+</sup>, fueron seleccionadas con base a los reportes científicos de su potencial como bioremediadoras (Tabla 2) y la persistencia y facilidad de transplante de malezas en los campos agrícolas (Tabla 3). El 38,89 % de las especies correspondió a monocotiledóneas y 61,11 % a dicotiledóneas (Figura 20, anexos 4, 5).

### **4.2 Tolerancia de plantas a diferentes concentraciones de Cr<sup>6+</sup>**

El aspecto físico y la supervivencia de las plantas determinó la tolerancia al Cr<sup>6+</sup>, descartándose aquellas con amarillamiento acentuado (Figuras 21, 22, 23), marchitez (Figuras 24, 25), amarillamiento y marchitez permanente (Figura 26) y muerte. En general, la frecuencia de especies vegetales tolerantes al Cr<sup>6+</sup> (Figuras 27, 28) disminuyó conforme se incrementó la concentración del ion metálico, oscilando entre 80,56 % con 1 ppm y 11,11 % con 1 000 ppm ( Figura 29).

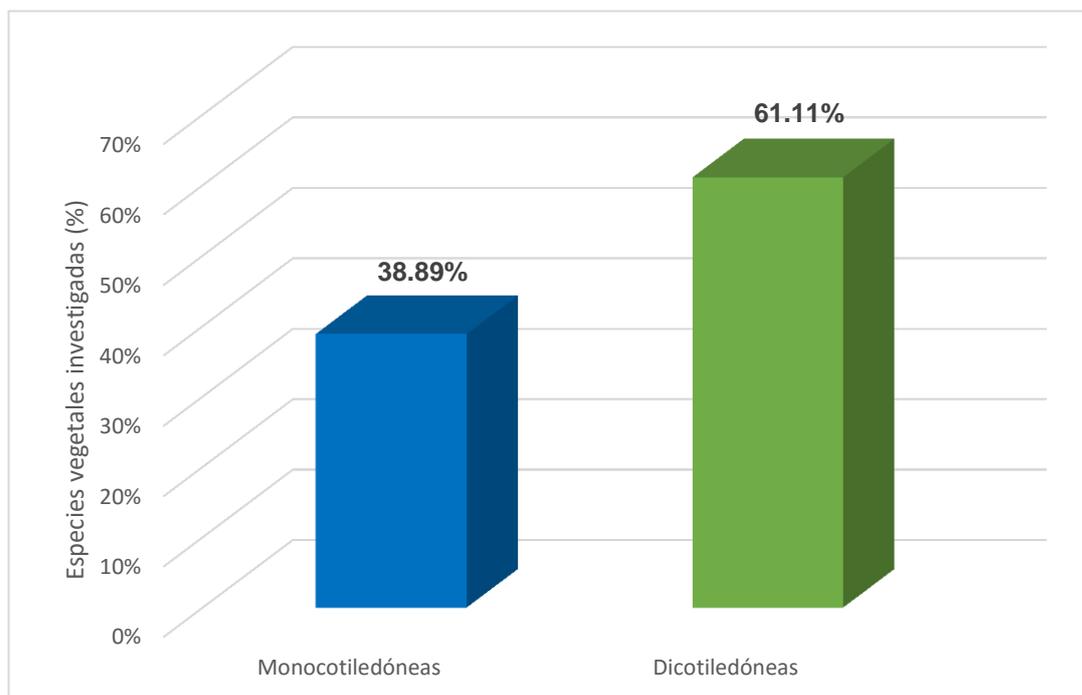
La frecuencia de especies monocotiledóneas tolerantes al Cr<sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, fue 36,11 % (13) con 1 y 10 ppm; 13,89 % (5) con 100 ppm y 5,56 % (2) con 1000 ppm Cr<sup>6+</sup> (Figura 30, anexo 6). La frecuencia de dicotiledóneas tolerantes al Cr<sup>6+</sup> fue 44,4 % (16) con 1 ppm; 38,89 % (14) con 10 ppm; 5,56 % (2) con 100 ppm y 5,56 % (2) con 1000 ppm Cr<sup>6+</sup> (Figura 31, anexo 6).

**Tabla 2.** Especies vegetales con potencial en la remoción de Cr<sup>6+</sup>, colectadas en campos agrícolas de la provincia de Chiclayo, noviembre 2014

<b>Especies vegetales</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Referencia bibliográfica</b>
<i>Canna indica</i> L.	Achira	Mallia <i>et al.</i> (2009)
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Coquito	Arias <i>et al.</i> (2010)
<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	Arrocillo	Rout <i>et al.</i> (2000)
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms.	Jacinto de agua	Alvarez <i>et al.</i> (2004)
<i>Gynerium sagittatum</i> (Aubl) P.	Caña brava	Madera <i>et al.</i> (2013)
<i>Helianthus annus</i> L.	Girasol	Quezada & Varela (2010)
<i>Ipomoea batatas</i> L.	Camote	Guevara & Montes (2014)
<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcken.	Malvastrum	Arias <i>et al.</i> (2010)
<i>Raphanus sativus</i> L.	Rabanito	Guevara & Montes (2014)

**Tabla 3.** Malezas colectadas en campos agrícolas de la provincia de Chiclayo, noviembre 2014

<b>Malezas</b>	<b>Nombre común</b>
<i>Alopecurus myosuroides</i> Hudson.	Cola de zorro
<i>Argemone mexicana</i> L.	Chicalote amarillo
<i>Amaranthus viridis</i> L.	Yuyo hembra
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Atreu del Perú
<i>Bidens pilosa</i> L.	Amor seco
<i>Boerhavia erecta</i> L.	Pega pega
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mills.	Frejol de palo
<i>Cenchrus echinatus</i> L.	Cadillo
<i>Cenchrus pauciflorus</i> Benth.	Cadillo chico
<i>Chamaesyce hypericifolia</i> (L.) Millsp.	Lecherita
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Persoon	Gramma dulce
<i>Chloris virgata</i> Swartz	Pata de gallo
<i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willdenow	Algarrobillo
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	Gramma salada
<i>Euphorbia hyssopifolia</i> L.	Chupona
<i>Heliotropium indicum</i> Linn.	Cola de alacrán
<i>Lepidium virginicum</i> L.	Perejil de tierra
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban	Frijolillo
<i>Paspalum notatum</i> Fluegge	Pasto bahía
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga
<i>Setaria viridis</i> (L.) Beauv.	Mijo silvestre
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Cerraja
<i>Solanum americanum</i> Miller.	Hierba mora
<i>Sorghum halepense</i> Persoon.	Sorgo
<i>Ruellia brittoniana</i> L.	Petunia mexicana
<i>Tessaria absinthioides</i> DC.	Chilquilla
<i>Wedelia glauca</i> (Ort.)	Yuyo sapo



**Figura 20.** Porcentaje de especies vegetales monocotiledóneas y dicotiledóneas colectadas en los campos agrícolas de Chiclayo, noviembre de 2014.



**Figura 21.** Amarillamiento de *Echinochloa colona* (L.) Link no tolerantes al Cr<sup>+6</sup>.



**Figura 22.** Amarillamiento de *Gynerium sagittatum* (Aubl) P. no tolerantes al Cr<sup>+6</sup>.



**Figura 23.** Amarillamiento de *Cajanus cajan* (L.) Mills. no tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



**Figura 24.** Marchitez de *Lepidium virginicum* L. no tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



**Figura 25.** Marchitez de *Sonchus oleraceus* L. no tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



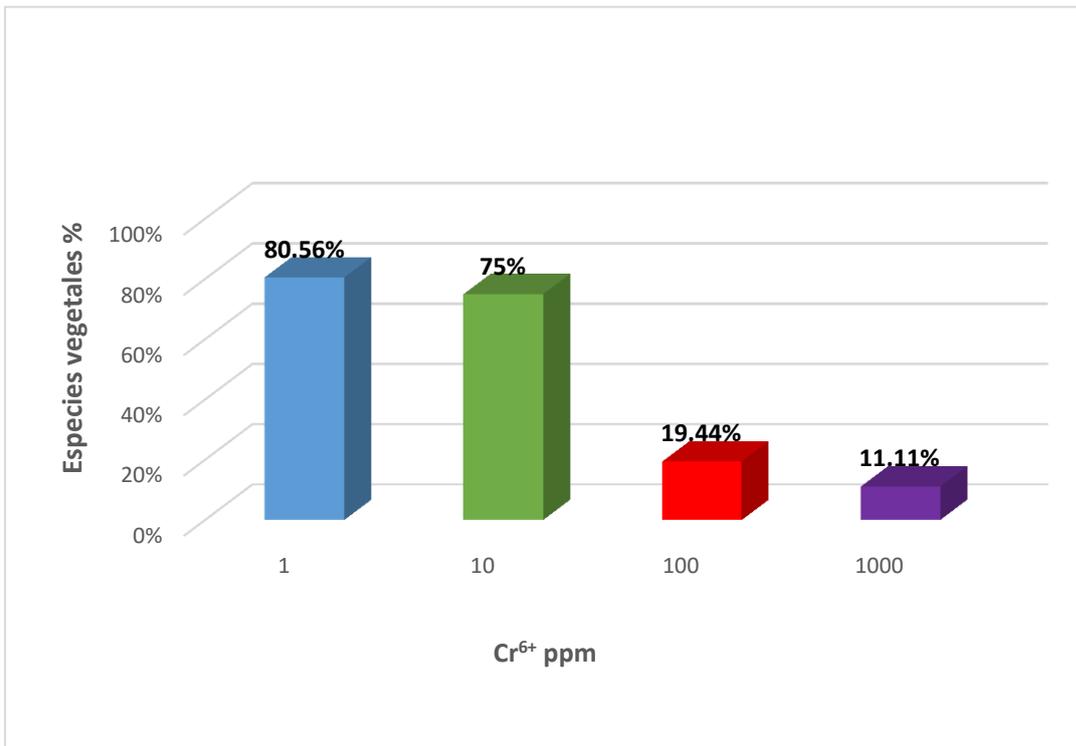
**Figura 26.** Amarillamiento y marchitez de *Cajanus cajan* (L.) Mills. no tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



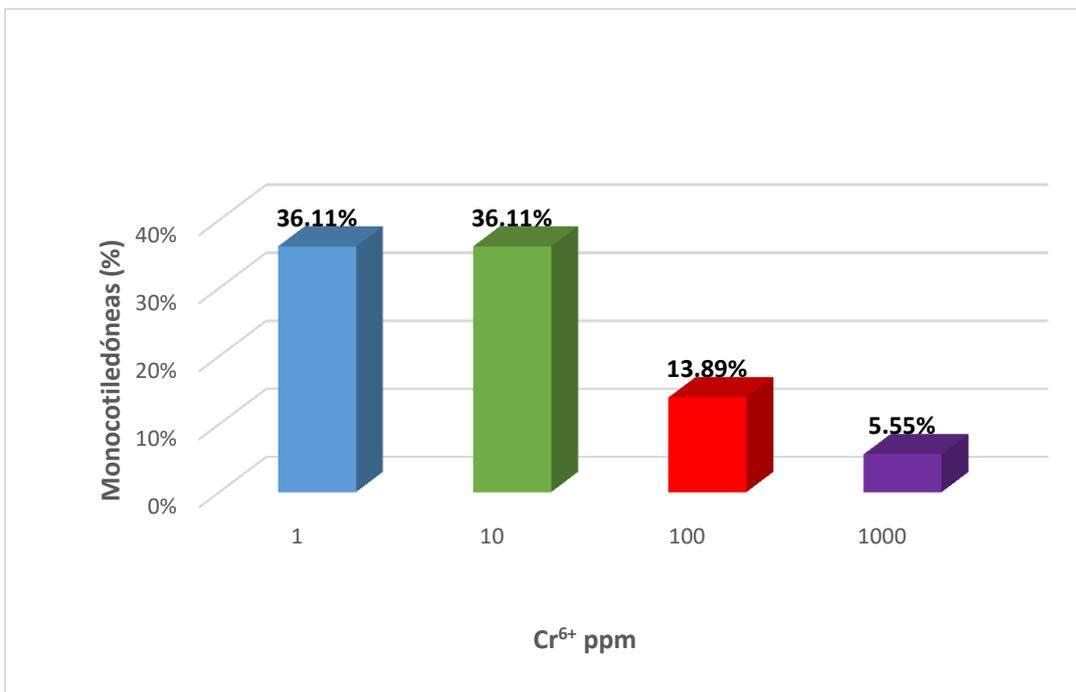
**Figura 27.** Plantas de *Canna indica* L. tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



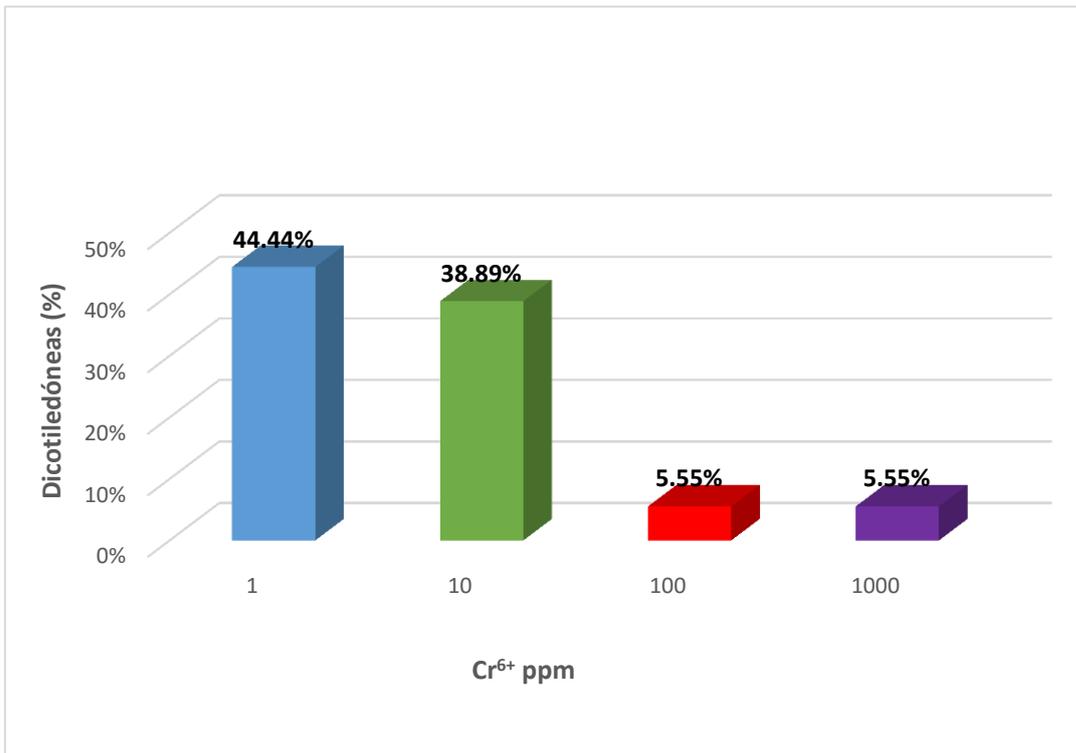
**Figura 28.** Plantas de *Ruellia brittoniana* L. tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$ .



**Figura 29.** Frecuencia (%) de especies vegetales tolerantes al Cr<sup>+6</sup> en condiciones de invernadero, 2014.



**Figura 30.** Frecuencia (%) de monocotiledóneas tolerantes al Cr<sup>+6</sup> en condiciones de invernadero, 2014.



**Figura 31.** Frecuencia (%) de dicotiledóneas tolerantes al Cr<sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, 2014.

Las especies vegetales que toleraron hasta 1 000 ppm fueron *Canna indica* “achira”, *Cynodon dactylon* “grama dulce”, *Ipomoea batata* “camote” y *Ruellia brittoniana* “petunia mexicana”, observándose 66,67 % - 100 % de plantas con aspecto físico normal (Tabla 4). Se seleccionaron la *achira*, *grama dulce* y *petunia mexicana*, por su fácil adaptación al sistema de humedal, descartándose el camote.

#### **4.3 Eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial**

Las especies vegetales *Canna indica*, *Cynodon dactylon*, *Ruellia brittoniana* se adaptaron gradualmente en los humedales artificiales de flujo subsuperficial, HAFSS con 1000 ppm Cr<sup>6+</sup> para determinar la eficiencia de la remoción del ión metálico.

Con los valores de absorbancia obtenidos con diferentes concentraciones de Cr<sup>6+</sup> (Figuras 32, 33) se obtuvo la ecuación  $y = 0,764x + 0,006$  (Tabla 5, Figura 34). Debido a que el valor de R<sup>2</sup> fue mayor de 0,9 se aceptó como patrón de referencia para el cálculo de la concentración de cromo hexavalente (Mantilla, 2007). En el proceso de fitorremediación, la concentración inicial de Cr<sup>6+</sup> en los HAFSS fue de 986 – 1000 ppm y disminuyó hasta 17,45 ppm a las 72 horas; 1,21 ppm a las 144 horas y 0,043 ppm a las 216 horas (Tablas 6, 7).

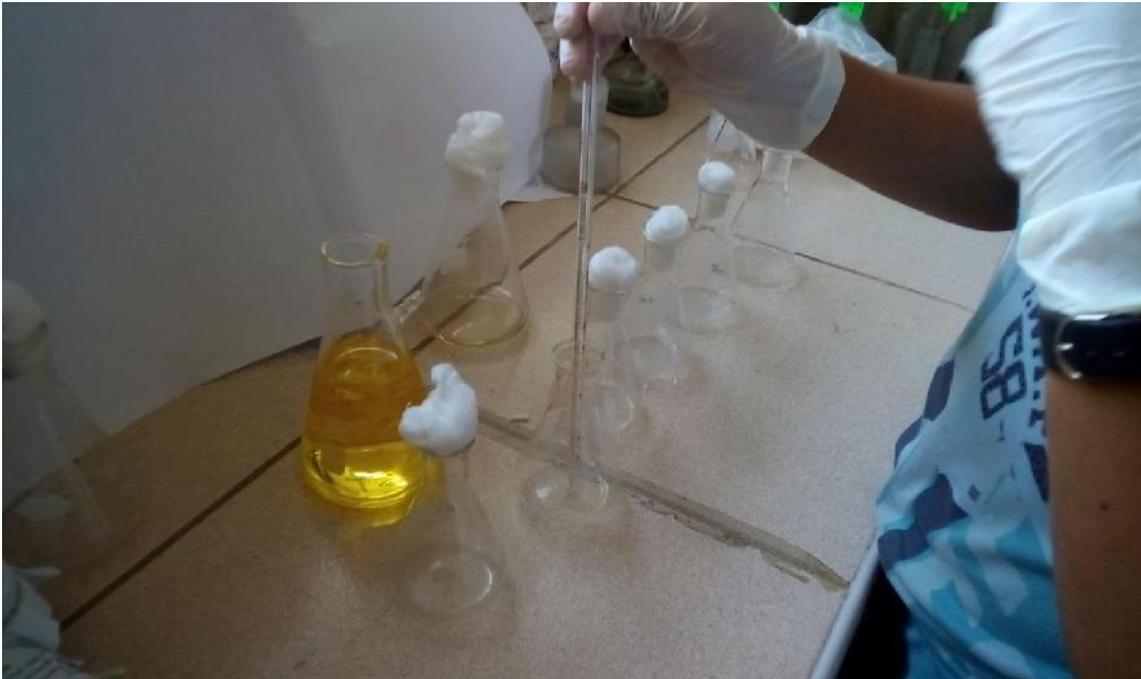
La eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> osciló entre 90 a 99 % (Tablas 8, 9). Con *Canna indica* se alcanzó 98,23 % a las 72 horas; 98,84 % a las 144 horas y 99,99 % a las 216 horas. A *Cynodon dactylon* le correspondió 93,63 % a las 72 horas; 99,62 % a las 144 horas y 99,87 % a las 216 horas. Con *Ruellia brittoniana* se registró 90,75 % a las 72 horas; 99,52 % a las 144 horas y 99,83 % a las 216 horas.

La prueba F del análisis de varianza del factorial 3 x 3 demostró alta significancia entre los tratamientos, especies vegetales (Factor A), tiempo (Factor B), así como en la interacción A x B, evidenciando que existió efecto de las variables en estudio en la eficiencia de la remoción de Cr<sup>6+</sup> (Tabla 10).

La prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para el factor A: especies vegetales demostró que el valor mayor de eficiencia en la remoción de Cr<sup>6+</sup> se alcanzó con *Canna indica*, diferenciándose significativamente de las otras especies vegetales (Tabla 11).

**Tabla 4.** Tolerancia (%) al Cr<sup>6+</sup> por tres especies vegetales en condiciones de invernadero, 2014

Especies vegetales	Tolerancia (%)/ Concentración Cr <sup>6+</sup> ppm			
	1	10	100	1000
<i>Canna indica</i>	100,00	100,00	83,33	83,33
<i>Cynodon dactylon</i>	100,00	83,33	66,67	66,67
<i>Ruellia brittoniana</i>	100,00	100,00	83,33	83,33



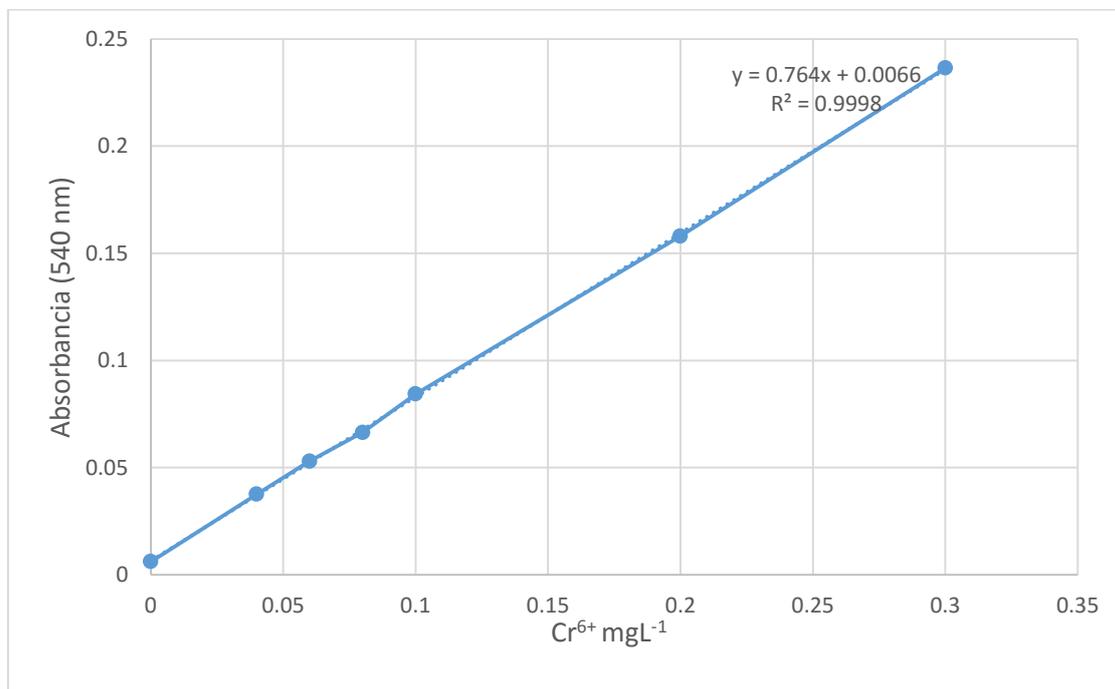
**Figura 32.** Adición de difenilcarbazida a diluciones de diferentes concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$ .



**Figura 33.** Coloración observada en la cuantificación de diferentes concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$ .

**Tabla 5.** Valores de absorbancia (540 nm) de diferentes concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$

$\text{Cr}^{6+}$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	Absorbancia (540 nm)
0	0,00620
0,04	0,03760
0,06	0,05300
0,08	0,06640
0,1	0,08440
0,2	0,15800
0,3	0,23640
0,4	0,31000



**Figura 34.** Curva patrón para determinar la concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  ( $\text{mgL}^{-1}$ ) en efluentes de humedales artificiales de flujo subsuperficial.

**Tabla 6.** Absorbancia (540 nm) de efluentes contaminados con Cr<sup>6+</sup> en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Especies vegetales	Cr <sup>6+</sup> (ppm / horas)				
	0*	72*	144*	216	
<i>Canna indica</i>	r1.	7,60	1,36	0,95	0,039
	r2.	7,58	1,34	0,93	0,037
	r3.	7,59	1,35	0,94	0,038
<i>Cynodon dactylon</i>	r1.	7,61	4,85	2,85	0,95
	r2.	7,58	4,81	2,84	0,94
	r3.	7,54	4,78	2,80	0,93
<i>Ruellia brittoniana</i>	r1	7,62	6,93	3,61	1,25
	r2.	7,59	6,90	3,57	1,20
	r3.	7,55	6,86	3,59	1,16

\*Dilución 10<sup>-1</sup>

**Tabla 7.** Concentración (mgL<sup>-1</sup>) de Cr<sup>6+</sup> en efluentes de humedales artificiales de flujo subsuperficial

Especies vegetales	Cr <sup>6+</sup> (ppm / horas)				
	0	72	144	216	
<b><i>Canna indica</i></b>	r1.	999,2	17,71	1,24	0,043
	r2.	996,6	17,45	1,21	0,040
	r3.	997,8	17,58	1,22	0,042
<b><i>Cynodon dactylon</i></b>	r1.	995,2	63,39	3,72	1,23
	r2.	991,2	63,26	3,70	1,22
	r3.	986,0	62,47	3,65	1,20
<b><i>Ruellia brittoniana</i></b>	r1	996,5	90,62	4,71	1,62
	r2.	997,8	90,22	4,66	1,56
	r3.	992,5	89,70	4,69	1,50

**Tabla 8.** Eficiencia (%) de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Especies vegetales		Cr <sup>+6</sup> (ppm / horas)		
		72	144	216
<i>Canna indica</i>	r1.	98,22	99,87	99,99
	r2.	98,24	99,87	99,99
	r3.	98,23	99,87	99,99
<i>Cynodon dactylon</i>	r1.	93,63	99,62	99,87
	r2.	93,61	99,62	99,87
	r3.	93,66	99,62	99,87
<i>Ruellia brittoniana</i>	r1	90,90	99,52	99,83
	r2.	90,95	99,53	99,84
	r3.	90,96	99,52	99,84

**Tabla 9.** Promedios de eficiencia (%) de la remoción de Cr<sup>6+</sup> por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Especies vegetales	Cr <sup>+6</sup> (ppm / horas)		
	72	144	216
<i>Canna indica</i>	98,23	99,87	99,99
<i>Cynodon dactylon</i>	93,63	99,62	99,87
<i>Ruellia brittoniana</i>	90,95	99,52	99,83

**Tabla 10.** Análisis de varianza de los promedios de eficiencia (%) en la remoción de Cr<sup>6+</sup> por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Ho :  $\mu A_1 = \mu A_2 = \mu A_3$  (Factor A = Especie vegetal)

Ho :  $\mu B_1 = \mu B_2 = \mu B_3$  (Factor B = Tiempo)

Ho : No hay efecto de la interacción A x B

Fuente de variación	SC	GI	CM	F	Sig.	Decisión
Tratamientos	264,771	8	33,096	162472,868	0,000	Rechaza Ho
Especies vegetales(A)	31,131	2	15,566	76413,164	0,000	Rechaza Ho
Tiempo (B)	182,945	2	91,473	449048,018	0,000	Rechaza Ho
Interacción (A x B)	50,694	4	12,673	62215,145	0,000	Rechaza Ho
Intersección (A x B)	259019,960	1	259019,960	1271552531,073	0,000	Rechaza Ho
Error	,004	18	0,000			
Total	259284,734	27				

CV= 0,01 %

**Tabla 11.** Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por tres especies vegetales en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Especies vegetales	Pares de medias	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<i>Canna indica</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	1,6556*	.00673	.000	1.6384	1.6727
	<i>Ruellia brittoniana</i>	2,5978*	.00673	.000	2.5806	2.6149
<i>Cynodon dactylon</i>	<i>Canna indica</i>	-1,6556*	.00673	.000	-1.6727	-1.6384
	<i>Ruellia brittoniana</i>	,9422*	.00673	.000	.9251	.9594
<i>Ruellia brittoniana</i>	<i>Canna indica</i>	-2,5978*	.00673	.000	-2.6149	-2.5806
	<i>Cynodon dactylon</i>	-,9422*	.00673	.000	-.9594	-.9251

**Tabla Tukey : Subconjuntos de medias**

Especie vegetal	N	Subconjunto		
		1	2	3
<i>Canna indica</i>	9	99,3633 a		
<i>Cynodon dactylon</i>	9		97,7078 b	
<i>Ruellia brittoniana</i>	9			96,7656 c
Sig.		1.000	1.000	1.000

Para el factor B: Tiempo la mayor eficiencia se registró a las 216 horas, no diferenciándose significativamente de 144 y 72 horas (Tabla 12). En cuanto a la interacción AxB, *Canna indica*-216 horas alcanzó la mayor eficiencia, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 13).

**Tabla 12.** Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por plantas en diferentes tiempos en humedales artificiales de flujo subsuperficial

Tiempo	Pares de medias	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
72	144	-5,4044*	0,00673	0,000	-5,4216	-5.3873
	216	-5,6322*	0,00673	0,000	-5,6494	-5.6151
144	72	5,4044*	0,00673	0,000	5,3873	5.4216
	216	-0,2278*	0,00673	0,000	-.2449	-0.2106
216	72	5,6322*	0,00673	0,000	5,6151	5.6494
	144	0,2278*	0,00673	0,000	0,2106	0,2449

Tiempo	N	Tabla Tukey : Subconjuntos de medias		
		1	2	3
216	9	99,8989 a		
144	9		99,6711 b	
72	9			94,2667 c
Sig.		1,000	1,000	1,000

**Tabla 13.** Prueba múltiple de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para los promedios de eficiencia (%) en la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por tres especies vegetales en diferentes tiempos en humedales artificial de flujo subsuperficial

<b>Especie vegetal</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Eficiencia de la remoción (%)</b>	<b>Significancia</b>
<i>Canna indica</i>	216	99,99	a
<i>Canna indica</i>	144	99,87	b
<i>Cynodon dactylon</i>	216	99,87	b
<i>Ruellia brittoniana</i>	216	99,83	b
<i>Cynodon dactylon</i>	144	99,62	c
<i>Ruellia brittoniana</i>	144	99,52	d
<i>Canna indica</i>	72	98,93	e
<i>Cynodon dactylon</i>	72	93,63	f
<i>Ruellia brittoniana</i>	72	90,95	g

## V. DISCUSIÓN

El cromo es un metal pesado que puede contaminar las aguas (Mozo, 2012). Reacciona químicamente con valencias II ( $\text{Cr}^{+2}$ ), III ( $\text{Cr}^{+3}$ ) y VI ( $\text{Cr}^{+6}$ ), siendo el  $\text{Cr}^{+6}$  de mayor toxicidad para los seres vivos (Panigatti *et al.*, 2012). Este metal puede ser removido de las aguas utilizando plantas, en el proceso de fitorremediación (Quezada & Varela 2009; Estrada, 2010; Cubillos, 2011). En este contexto, para ser investigadas, se seleccionaron plantas de la región de Lambayeque, con base a reportes previos de su potencial para la remoción de  $\text{Cr}^{+6}$ , coincidiendo con Diez (2008) y Peña *et al.*, (2013).

El potencial para la remoción de  $\text{Cr}^{+6}$  también se investigó en malezas, coincidiendo con Albarracin *et al.* (2008) y Sánchez (2008), quienes demostraron que estas plantas tienen potencial para la remoción de Bo, Pb y Zn en efluentes contaminados. Las malezas son aquellas plantas que emergen espontáneamente en lugares no deseados, especialmente junto a los cultivos agrícolas, con los que compiten por agua, luz, nutrientes y espacio, entre otros. Las malezas son persistentes en condiciones desfavorables gracias a mecanismos de resistencia y tolerancia (CESAVEG, 2007). Sus semillas tienen gran longevidad, el desarrollo vegetativo es agresivo, el periodo vegetativo es corto, con una producción continua y abundante de semillas, son autocompatibles, toleran las variaciones climáticas y se dispersan a cortas y largas distancias (Ixtabalan, 2007).

Según Albarracin *et al.* (2008), para implementar la fitorremediación, el primer paso es detectar especies tolerantes al metal pesado. Por esta razón, se seleccionaron las plantas resistentes a 1-1 000 ppm  $\text{Cr}^{+6}$ . En las condiciones del presente estudio, el aspecto físico de las plantas determinó la tolerancia al  $\text{Cr}^{+6}$  y su potencial de fitorremediación, coincidiendo con Diez (2008); no obstante, también se puede medir la tasa de crecimiento y acumulación, para obtener un valor de extracción en gramos o Kg de metal por hectárea y año

(Torres *et al.*, 2010; Peña *et al.*, 2013). Las plantas hiperacumuladoras acumulan y transforman una variedad de compuestos tóxicos, especialmente metales, habiéndose determinado que contienen más de 0,1% de su peso seco de  $\text{Cr}^{+6}$  u otros metales como el Co, Cu Pb y Ni (Prasad & Freitas, 2004).

El 11,11 % de las plantas investigadas toleró hasta 1 000 ppm de  $\text{Cr}^{+6}$ , concentración que superó ampliamente  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de materia seca en muestras de suelo, mencionado como límite de fitotoxicidad por Diez (2008). Este investigador acondicionó sustratos de crecimiento para *Cistus ladanifer* L., *Brassica juncea* L. y *Salix viminalis* con lodos residuales de una industria de cueros, con una concentración promedio de Cr de  $44\ 112 \text{ mg Kg}^{-1}$  de peso seco. Por su parte, Torres *et al.* (2010) investigaron el uso de *Vetiveria zizanioides* para la fitorremediación de lodo residual de una curtiembre con  $21000 \text{ mg Kg}^{-1}$  Cr y Álvarez *et al.* (2004) trabajaron un efluente de una zona industrial de curtiembres con  $5 - 23 \text{ mgL}^{-1} \text{ Cr}^{+6}$ .

La raíz constituye el tejido de entrada principal de metales pesados en la planta. El Cr independientemente de su estado de oxidación en la solución (III o VI) se almacena en mayor proporción en la raíz, donde la acumulación representa en promedio 90% del total, mientras que 10% restante se distribuye entre el tallo y hojas. Esta distribución se explica por el proceso de difusión en el medio, mediante un flujo masivo y por intercambio catiónico. Las cargas negativas de las células rizodérmicas, atribuidas en gran medida a los grupos carboxilo del ácido péptico interactúan con las cargas positivas de los metales pesados (Torres *et al.*, 2010). En el interior de la planta, el Cr tiene pobre translocación desde las raíces hacia la parte aérea y es retenido en las vacuolas y paredes celulares radiculares (Diez, 2008).

La frecuencia de especies vegetales tolerantes al  $\text{Cr}^{+6}$  disminuyó conforme se incrementó la concentración del ion metálico, coincidiendo con Diez (2008), quien demostró que al contenido de Cr afectó significativamente el desarrollo de *Cistus ladanifer*, observándose escaso desarrollo, graves síntomas de clorosis y reducción de la biomasa. Al respecto Watson *et al.* (2003) concluyeron que la toxicidad de los metales pesados contaminantes supone un efecto negativo en el desarrollo de las plantas, por lo que una mayor

reducción del crecimiento, en relación con los sustratos no contaminados, se relaciona con una menor tolerancia.

Las especies vegetales se diferenciaron en su capacidad para tolerar las diferentes concentraciones de  $\text{Cr}^{+6}$ , coincidiendo con Diez (2008), quien determinó que *Salix viminalis* y principalmente *Cistus ladanifer* L. mostraron síntomas de toxicidad y reducción de la biomasa aérea. En el caso de *C. ladanifer*, la biomasa alcanzó 523,3 mg en el sustrato no contaminado y 21,9 en el contaminado. Por el contrario, *Brassica juncea* L. apenas se vio afectada por el contenido de  $\text{Cr}^{+6}$ , mostrando índices de tolerancia superiores a 84 %, que excedieron a 50 % de producción de biomasa mínima, valor deseado para plantas que crecen en suelos contaminados.

Las plantas *Canna indica*, *Cynodon dactylon* y *Ruellia brittoniana*, con una mayor tolerancia al  $\text{Cr}^{6+}$  se seleccionaron para determinar la eficiencia de remoción del metal en humedales de flujo subsuperficial, coincidiendo con Estrada (2010), respecto a que las especies vegetales utilizadas en la fitorremediación deben ser propias de la flora local y tolerar los contaminantes presentes en las aguas residuales.

La investigación de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  se realizó en condiciones de humedales artificiales de flujo subsuperficial, HAFSS, coincidiendo con Duran *et al.* (2003). El término humedal se usa para definir áreas que se caracterizan por tener un suelo saturado con agua y una comunidad viviente adaptada a la vida acuática o a un suelo saturado. Para el tratamiento de aguas residuales se han desarrollado dos tipos de humedales artificiales: de flujo superficial, HAFS y de flujo subsuperficial, HAFSS. En los HAFS la superficie del agua está expuesta a la atmósfera y el fondo está constituido por suelo relativamente impermeable y vegetación emergente. Los HAFSS consisten de un filtro biológico relleno de un medio poroso en el que las plantas macrófitas se siembran en la superficie del lecho filtrante y las aguas contaminadas atraviesan de forma horizontal o vertical el lodo, manteniéndose el nivel de lecho por debajo del medio granular (Arias *et al.*, 2010).

La concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  en los HAFSS disminuyó conforme transcurrió el tiempo, demostrándose la efectividad de las plantas para extraer metales de los efluentes. En la fitorremediación o uso de plantas para eliminar, distribuir o transformar contaminantes del suelo, agua y aire, las especies

vegetales son seleccionadas principalmente por su potencial fisiológico como es el caso de enzimas para tolerar y asimilar sustancias tóxicas, tasa de crecimiento, profundidad de raíces y habilidad para acumular, degradar o acumular – degradar contaminantes (Peña *et al.*, 2013). En la fitorremediación de efluentes contaminados con  $\text{Cr}^{6+}$  se identifican los procesos de rizofiltración en el que las raíces se usan para absorber, precipitar y concentrar los contaminantes y la fitoextracción en el que las plantas translocan y concentran el metal en las partes cosechables (Arias *et al.*, 2010).

En los HAFSS con *Canna indica* y *Cynodon dactylon*, la concentración inicial de  $\text{Cr}^{6+}$  1000 ppm disminuyó hasta 0,04 ppm después de 6 y 9 días respectivamente, valor inferior a 0,05 ppm considerado por las Normas Internacionales como máximo para efluentes (Otiniano *et al.*, 2007). Otros investigadores Álvarez *et al.*, (2004) y Auxilia (2009) también demostraron la disminución de  $\text{Cr}^{6+}$  hasta niveles permisibles con el uso de *Eichornia crassipes* (0,37 ppm  $\text{Cr}^{6+}$ ) y *Canna indica* (< 1 ppm  $\text{Cr}^{6+}$ ).

La eficiencia máxima fue de 95% en la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  por *Canna indica* en HAFSS. Según Diez (2008) la eficiencia del proceso de fitoextracción de un metal depende en gran medida de que exista una translocación de cantidades sustanciales del metal absorbido por las raíces hacia las partes cosechables de las plantas; sin embargo, la biomasa aérea alcanzada por éstas determina en última instancia la cantidad total de Cr extraído de sustrato contaminado y por lo tanto es un aspecto determinante en el éxito de la fitorremediación. En el presente estudio las plantas investigadas formaron biomasa, por la que se consideran prometedoras para uso potencial en la fitorremediación de  $\text{Cr}^{6+}$ .

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1. El 100% de las plantas investigadas fue tolerante a determinada concentración de  $\text{Cr}^{6+}$ , correspondiendo el 80,56% a 1 ppm, 75,0% a 10 ppm; 19,44% a 100 ppm y 11,11% a 1000 ppm.
- 6.2. Las plantas seleccionadas debido a que toleraron hasta 1000 ppm fueron *Canna indica* “achira”, *Cynodon dactylon* “grama dulce”, *Ipomoea batata* “camote” y *Ruellia brittoniana* “petunia mexicana”.
- 6.3. La eficiencia en la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  osciló entre 90–99 %, correspondiendo el mayor valor de 99,99% a *Canna indica* “achira” a las 216 horas.

## VII. RECOMENDACIONES

Investigar el mecanismo de la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  de *Canna indica* “achira”, *Cynodon dactylon* “grama dulce”, *Ipomoea batata* “camote” y *Ruellia brittoniana* “petunia mexicana”.

Determinar la eficiencia de la remoción de Cr en efluentes de curtiembres.

Determinar la eficiencia de la remoción de Cr por *Canna indica*, *Cynodon dactylon* y *Ruellia brittoniana* en suelos contaminados.

## VIII. RESUMEN

Las plantas pueden ser utilizadas para la remoción de Cr en efluentes contaminados, en reemplazo de otros procesos con elevado costo de mantenimiento y consumo energético. El objetivo de la presente investigación fue determinar la eficiencia de la remoción de Cr<sup>+6</sup> por plantas en humedales artificiales de flujo subsuperficial, HAFSS. Se investigaron 36 especies vegetales: 38,89 % monocotiledóneas y 61,11 % dicotiledóneas. La tolerancia al Cr<sup>+6</sup> de las plantas previamente adaptadas a condiciones de invernadero, se determinó regándolas con una solución de dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) en las concentraciones 1, 10, 100 y 1000 ppm. El aspecto físico y la supervivencia de las plantas determinó la tolerancia. La frecuencia de especies monocotiledóneas tolerantes al Cr<sup>+6</sup> en condiciones de invernadero, fue 36,11 % con 1 y 10 ppm; 13,89 % con 100 ppm y 5,56 % con 1000 ppm Cr<sup>+6</sup>. La frecuencia de dicotiledóneas tolerantes al Cr<sup>+6</sup> fue 44,4 % con 1 ppm; 38,89 % con 10 ppm; 5,56 % con 100 ppm y 5,56 % con 1000 ppm Cr<sup>+6</sup>. Las especies vegetales que toleraron hasta 1000 ppm fueron *Canna indica* "achira", *Cynodon dactylon* "grama dulce", *Ipomoea batata* "camote" y *Ruellia brittoniana* "petunia mexicana", observándose 66,67 % - 100 % de plantas con aspecto físico normal. Se seleccionaron la achira, grama dulce y petunia mexicana, por su fácil adaptación al sistema de humedal, descartándose el camote. En condiciones de HAFSS las plantas seleccionadas se adaptaron gradualmente a 1000 ppm Cr<sup>+6</sup> durante 6 semanas y se determinó que la eficiencia en la remoción de Cr<sup>+6</sup> osciló entre 90-99 %, correspondiendo el mayor valor de 99,99 % a *Canna indica*-216 horas. Se demostró el potencial de las plantas seleccionadas para la remoción de Cr<sup>+6</sup>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, I., López, V., Coronado, E., Cárdenas, J. & Martínez, V. (2010). Remoción de Cromo (VI) en Solución acuosa por la biomasa de la cáscara de tamarindo. *Biotecnología*, 14 (3), 11-20.
- Álvarez, S., Maldonado, M., Gerth, A., & Kuschik, P. (2004). Caracterización de agua residual de curtiduría y estudio del lirio acuático en la recuperación de cromo. *Información Tecnológica*, 15(3), 75-80.
- Alvitres, V. (2000). *Método Científico. Planificación de la Investigación*. 2da ed. Lambayeque, Perú: Editorial Ciencia.
- Albarracín, S., Larenas, G., Quiroga, M. & Viana, M. (2008). *Relevamiento de Zonas Contaminadas por Industrias Borateras en Salta. Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 12(1), 15-20.
- Arias, S., Betancur, F., Gómez, G., Salazar, J. & Hernández, M. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador Técnico (Colombia)*, 74, 12 – 22.
- Auxilia, M. (2009). Fitorremediación de aguas residuales contentivas de cromo con especies de la familia Cannaceae. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsAIDIS/PuertoRico29/reyna.pdf>.
- Babel, S. & Dacera D. (2006). La Eliminación de Metales Pesados de los Lodos Contaminados. *Waste Management*, 26, 988-1004.
- Castro, M., & Gonzales, F. (2003). *Eficiencia en la biodegradación de cianuro por un consorcio microbiano aislado de aguas superficiales de quebradas que alimentan el río Llaucano. Cajamarca. Febrero-diciembre 2002*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Perú.
- Celis, J., Junod, J. & Sandoval, M. (2005). Recientes aplicaciones de la depuración de aguas residuales con plantas acuáticas. Chile. *Theoria*, 14 (1), 17-25.
- Chambergó, C. & Herrera, P. (2009). *Efecto de la concentración de sustrato, agitación y tiempo en la degradación fotocatalítica, biodegradación y "proceso acoplado" de cianuro en laboratorio. Dren 4000, Lambayeque*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Perú.
- Comité Estatal de Sanidad Vegetal, CESAVEG (2007). Campaña de manejo fitosanitario de trigo. Manejo Integrado de Malezas.

- Cubillos, T. (2011). *Evaluación de la fitorremediación como alternativa de tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos*. (Tesis de Maestría). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Diez, J. (2008). *Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas*. (Tesis Doctoral). Universidad de Santiago, España.
- Durán, J., García, A. & López, J. (2003). Propuesta de clasificación genético-geológica de humedales. Aplicación a los humedales españoles incluidos en el Convenio de Ramsar. *Instituto Geológico y Minero de España*, 120 (3), 335-346.
- Estrada, G. (2010). *Humedales artificiales de flujo subsuperficial (HAFSS) para remoción de metales pesados en aguas residuales*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Guevara, D. (2010). *Biorremoción de Cromo (Cromo Total Y Cromo VI) en agua sintética por dos inóculos bacterianos nativos compuestos, a escala de laboratorio*. (Tesis de Licenciatura). Escuela Politécnica del Ejército, Ecuador.
- Guevara, P., & Montes, L. (2014). *Espacialización de concentración de metales pesados cromo, zinc y plomo en el complejo industrial Fabrillfame y propuesta de remediación de suelos*. (Tesis de Licenciatura). Escuela Politécnica del ejército, Ecuador.
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2003). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A.
- Ixtabalan, A. (2007). *Inventario de malezas contaminantes de lotes de semillas importadas a Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Madera, C., Peña, M., Peña, S., & Lens, J. (2013). La fitorremediación de lixiviados de rellenos sanitarios con esculenta *Colocasia*, *Gynerum sagittatum* y *Heliconia psittacorum* en Humedales Artificiales. *International Journal of Phytoremediation*, 17(1), 16-24.
- Mallia, M. & Auxilia, D. (2009). Fitorremediación de Aguas Residuales Contaminadas de Cromo con Especies de la Familia Cannaceae. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsAIDIS/PuertoRico29/reyna.pdf>

- Mantilla, M. (2007). *Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (Chrysanthemum morifolium var. yoko ono) en periodo de enraizamiento*. (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- Mozo, R., (2012). *Determinación del nivel de cromo hexavalente en los pozos tubulares y efluentes de drenaje de las lagunas de oxidación, del distrito de moche, en el periodo enero - agosto del 2010*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Municipalidad Provincial de Chiclayo. (2014). Lambayeque, Perú. Recuperado de: [http://www.munilambayeque.gob.pe/ubicacion\\_geografica.php](http://www.munilambayeque.gob.pe/ubicacion_geografica.php).
- Núñez, F. (2002). Evaluación a escala piloto de la fitorremediación de cuerpos de agua empleando *Canna glauca*. México. *Boletín del Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 28, 1-8.
- Otiniano, M., Tuesta, L., Robles, H., Luján, M., & Chávez, M. (2007). Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas* sp. y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Médica Vallejana*, 4, 32-42.
- Panigatti, M., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F. & Cassina, D. (2012). *Uso de Escherichia coli para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI)*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 11-24.
- Pellón, A., Benitez, E., Frades, J., Garcia, L., Cerpa, A. & Alguacil, E. (2003). Empleo de microalga *Scenedesmus obliquus* en la eliminación de cromo presente en aguas residuales galvánicas. Madrid. *Revista de Metalurgia*, 39, 9-16.
- Peña, E., Madera, C., Sánchez, J. & Medina, J. (2013). Bioprospección de plantas nativas para su uso en procesos de biorremediación: caso *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae), Colombia. *Ciencias Naturales*, 37(145), 469-281.
- Prasad, M. & Freitas, H. (2004). Metal hyperaccumulation in plants biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6 (3), 285– 321.
- Rodier, J. & Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*, España: Edición Omega.

- Rout, G., Sanghamitra, S. & Premananda, D. (2000). Efectos de cromo y níquel en la germinación y el crecimiento de las poblaciones tolerantes y no tolerantes de *Echinochloa colona* (L.) Link. India. *Chemosphere*, 40 (8), 855-859.
- Quezada, R., & Varela, E. (2009). *Remediación natural para completar la depuración del cromo (VI) en efluentes de curtiembres*. Universidad Tecnológica Nacional, Argentina.
- Sánchez, E. (2008). *Especies vegetales y microorganismos rizoféricos tolerantes a metales pesados de un ecosistema contaminado*. (Tesis de Maestría). Universidad Agraria La Habana, Cuba.
- Torres, D., Cumana, A., Torrealba, O. & Posada, D. (2010). Uso de Vetiver para la fitorremediación de cromo en lodos residuales de tenería. México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1(2), 175-187.
- Vásquez, A., Diaz, N., Vásquez, O. & Vásquez, W. (2012). *Metodología de la Investigación Científica*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.
- Watson, C., Pulford, I. & Riddell-Black, D. (2003). Proyección de las especies de sauce para la resistencia a metales pesados: comparación de rendimiento en un sistema de cultivo hidropónico y pruebas de campo. *Revista Internacional de fitorremediación*, 5, 351-365.
- Yagnentkovsky, N. (2011). *Aplicación de técnicas de biorremediación para el tratamiento de residuos industriales con alto contenido de metales pesados*. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional De La Plata, Argentina.

## **x. ANEXOS**

## ANEXO 1

### Cálculo del número de muestras de plantas cultivadas y no cultivadas para selección de tolerancia al Cr<sup>6+</sup> (Vásquez *et al.*, 2015)

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{t^2}$$

Donde:

n = Tamaño de muestra

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

p = Prevalencia de plantas resistentes Cr<sup>6+</sup> (0,60)

q = Ausencia (0,40)

t = Error permitido (5%)

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,60 \times 0,40)}{(0,05)^2}$$

$$n = 36 \text{ muestras}$$

## ANEXO 2

### Preparación de agua sintética a diferentes concentraciones de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) a partir de una solución madre

Para preparar una solución solución madre de dicromato de potasio, pesar 2,83 g de ( $K_2Cr_2O_7$ ) y diluir en 18 000 mL de agua dechlorada.

Luego:

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

$$\text{Concentración } 10 = 10 \text{ mgL}^{-1}$$

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$2830 \text{ mgL} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 18\,000 \text{ mL}$$

$$2830 \text{ mgL} \times V_1 = 10 \text{ mgL}^{-1} \times 18\,000 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 18\,000 \text{ mL}}{2830 \text{ mgL}}$$

$$V_1 = 63,60 \text{ mL}$$

$$V_1 = 63,60 \text{ mL}$$

Para obtener una concentración de 10 ppm de dicromato de potasio, tomar 63,60 mL de la solución madre y aforar a 18 000 mL con agua dechlorada.

Para una solución de 100 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$2830 \text{ mgL} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 18\,000 \text{ mL}$$

$$2830 \text{ mgL} \times V_1 = 100 \text{ mgL}^{-1} \times 18\,000 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 18\,000 \text{ mL}}{2830 \text{ mgL}}$$

$$V_1 = 636,04 \text{ mL}$$

$$V_1 = 636,04 \text{ mL}$$

Para obtener una concentración de 100 ppm de dicromato de potasio, tomar 636,04 mL de la solución madre y aforar a 18000 mL con agua dechlorada.

Para una solución de 1000 ppm tenemos:

$$\begin{aligned}C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\2830 \text{ mgL} \times V_1 &= 1000 \text{ ppm} \times 9000 \text{ mL} \\2830 \text{ mgL} \times V_1 &= 1000 \text{ mgL}^{-1} \times 9000 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{1000 \text{ ppm} \times 9000 \text{ mL}}{2830 \text{ mgL}} \\V_1 &= 3180,21 \text{ mL}\end{aligned}$$

Para obtener una concentración de 1000 ppm de dicromato de potasio, tomar 3180,21 mL de la solución madre y aforar a 9 000 mL con agua deionada.

Con esta misma fórmula obtener las concentraciones de dicromato de potasio requeridas para selección de plantas resistentes al  $\text{Cr}^{6+}$  en condiciones de invernadero.

### ANEXO 3

#### Preparación de agua sintética suplementada con concentraciones crecientes de dicromato de potasio

Concentración requerida (ppm)	Solución madre (mL)	Agua sintética (L)
10	63,60	18
100	636,04	18
1000	3180,21	9

#### ANEXO 4

##### Plantas monocotiledoneas recolectadas en campos comerciales de la provincia de Chiclayo, noviembre, 2014

Plantas	Ciclo de vida
<i>Alopecurus myosuroides</i>	Perenne
<i>Canna indica</i>	Perenne
<i>Cenchrus echinatus</i>	Anual
<i>Cenchrus pauciflorus</i>	Anual
<i>Chloris virgata</i>	Anual
<i>Cynodon dactylon</i>	Perenne
<i>Cyperus rotundus</i>	Perenne
<i>Distichlis spicata</i>	Perenne
<i>Echinochloa colona</i>	Anual
<i>Eichhornia crassipes</i>	Perenne
<i>Gynerium sagittatum</i>	Perenne
<i>Paspalum notatum</i>	Perenne
<i>Setaria viridis</i>	Annual
<i>Sorghum halepense</i>	Perenne

## ANEXO 5

### Plantas dicotiledóneas recolectadas en campos comerciales de la provincia de Chiclayo, noviembre, 2014

Plantas	Ciclo de vida
<i>Amaranthus viridis</i>	Perenne
<i>Argemone mexicana</i>	Anual
<i>Amaranthus retroflexus</i>	Anual
<i>Bidens pilosa</i>	Anual
<i>Boerhavia erecta</i>	Anual
<i>Cajanus caja</i>	Perenne
<i>Chamaesyce hypericifolia</i>	Perenne
<i>Desmanthus virgatus</i>	Perenne
<i>Euphorbia hyssopifolia</i>	Anual
<i>Helianthus annuus</i>	Anual
<i>Heliotropium indicum</i>	Anual
<i>Ipomoea batata</i>	Anual
<i>Lepidium virginicum</i>	Anual
<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Anual
<i>Macroptilium lathyroides</i>	Anual
<i>Portulaca oleracea</i>	Anual
<i>Raphanus Sativus</i>	Anual
<i>Ruellia brittoniana</i>	Perenne
<i>Solanum americanum</i>	Anual
<i>Sonchus oleraceus</i>	Anual
<i>Tessaria absinthioides</i>	Perenne
<i>Wedelia glauca</i>	Perenne

## ANEXO 6

### Especies vegetales según tolerancia al Cr<sup>6+</sup> durante 7 semanas

Especies vegetales	Cr <sup>6+</sup> (ppm)					
	1		10		100	
	Semanas					
	1	2	3	4	5	6
<i>Alopecurus myosuroides</i> Hudson.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=3 T=3	A=0 T=6
<i>Argemone mexicana</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Amaranthus viridis</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=3 T=3	A=0 T=6
<i>Bidens pilosa</i> L.	A=6 T=0	A=4 T=2	A=2 T=4	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Boerhavia erecta</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=4 T=2	A=1 T=5	A=0 T=6
<i>Canna indica</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=5 T=1
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mills.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Cenchrus echinatus</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=3 T=3	A=0 T=6
<i>Cenchrus pauciflorus</i> Benth.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Chamaesyce hypericifolia</i> (L.) Millsp.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=3 T=3	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Persoon	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=4 T=2	A=4 T=2
<i>Cyperus rotundus</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=4 T=2	A=0 T=6
<i>Chloris virgata</i> Swartz	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=1 T=5	A=0 T=6
<i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willdenow	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=3 T=3	A=1 T=5	A=0 T=6
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=3 T=3	A=0 T=6
<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=0 T=6
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=3 T=3	A=0 T=6

Continuación...

Especies vegetales	Cr <sup>+6</sup> (ppm)					
	1		10		100	
	Semanas					
	1	2	3	4	5	6
<i>Euphorbia hyssopifolia</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=1 T=5	A=0 T=6
<i>Gynerium sagittatum</i> (Aubl) P.	A=4 T=2	A=3 T=3	A=1 T=5	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Helianthus annuus</i> L.	A=3 T=3	A=1 T=5	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Heliotropium indicum</i> Linn.	A=6 T=0	A=4 T=2	A=2 T=4	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Ipomoea batatas</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=5 T=1
<i>Lepidium virginicum</i> L.	A=6 T=0	A=4 T=2	A=2 T=4	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban,	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=3 T=3	A=0 T=6
<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcken.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=4 T=2	A=4 T=2	A=0 T=6
<i>Paspalum notatum</i> Fluegge.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Portulaca oleracea</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Setariaviridis</i> (L.) Beauv.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	A=6 T=0	A=4 T=2	A=2 T=4	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Solanum americanum</i> Miller.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Sorghum halepense</i> Persoon.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Raphanus sativus</i> L.	A=3 T=3	A=2 T=4	A=1 T=5	A=0 T=6	A=0 T=6	A=0 T=6
<i>Ruellia brittoniana</i> L.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=5 T=1	A=5 T=1
<i>Tessaria absinthioides</i> DC.	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6
<i>Wedelia glauca</i> (Ort.)	A=6 T=0	A=6 T=0	A=6 T=0	A=5 T=1	A=2 T=4	A=0 T=6

\*seis planta por especie.

A= tolerantes al Cr<sup>+6</sup>, coloración y turgencia no se vieron marcadamente afectadas.

T= no tolerantes al Cr<sup>+6</sup>, coloración anormal y turgencia se vieron marcadamente afectadas.

## ANEXO 7

### Especies vegetales (%) con resistencia a concentraciones crecientes de Cr<sup>6+</sup> en condiciones de invernadero, Lambayeque 2014

Especies vegetales	Cr <sup>6+</sup> (ppm)					
	1		10		100	
	1000					
Especies vegetales	Semanas					
	1	2	3	4	5	6
<i>Alopecurus myosuroides</i> Hudson.	100%	100%	100%	100%	50%	0%
<i>Argemone mexicana</i> L.	100%	100%	100%	66,67%	33,33%	0%
<i>Amaranthus viridis</i> L.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	100%	100%	100%	66,67%	50%	0%
<i>Bidens pilosa</i> L.	100%	66,67%	33,33%	0%	0%	0%
<i>Boerhavia erecta</i> L.	100%	100%	83,33%	66,67%	16,67%	0%
<i>Canna indica</i> L.	100%	100%	100%	100%	83,33%	83,33%
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Mills.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Cenchrus echinatus</i> L.	100%	100%	100%	66,67%	50%	0%
<i>Cenchrus pauciflorus</i> Benth.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Chamaesyce hypericifolia</i> (L.) Millsp.	100%	100%	100%	50%	33,33%	0%
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Persoon	100%	100%	100%	83,33%	66,67%	66,67%
<i>Cyperus rotundus</i> L.	100%	100%	100%	83,33%	66,67%	0%
<i>Chloris virgata</i> Swartz	100%	100%	100%	66,67%	16,67%	0%
<i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willdenow	100%	100%	100%	50%	16,67%	0%
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	100%	100%	100%	83,33%	50%	0%
<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	100%	100%	100%	66,67%	66,67%	0%
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms.	100%	100%	100%	100%	50%	0%

Continuación...

Especies vegetales	Cr <sup>+6</sup> (ppm)					
	1		10		100	
	Semanas					
	1	2	3	4	6	7
<i>Euphorbia hyssopifolia</i> L.	100%	100%	100%	83,33%	16,67%	0%
<i>Gynerium sagittatum</i> (Aubl) P.	66,67%	50%	16,67%	0%	0%	0%
<i>Helianthus annuus</i> L.	50%	16,67%	0%	0%	0%	0%
<i>Heliotropium indicum</i> Linn.	100%	66,67%	33,33%	0%	0%	0%
<i>Ipomoea batatas</i> L.	100%	100%	100%	100%	83,33%	83,33%
<i>Lepidium virginicum</i> L.	100%	66,67%	33,33%	0%	0%	0%
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban,	100%	100%	100%	100%	50%	0%
<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcken.	100%	100%	100%	66,67%	66,67%	0%
<i>Paspalum notatum</i> Fluegge.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Portulaca oleracea</i> L.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Setaria viridis</i> (L.) Beauv.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	100%	66,67%	33,33%	0%	0%	0%
<i>Solanum americanum</i> Miller.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Sorghum halepense</i> Persoon.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Raphanus sativus</i> L.	50%	33,33%	16,67%	0%	0%	0%
<i>Ruellia brittoniana</i> L.	100%	100%	100%	100%	83,33%	83,33%
<i>Tessaria absinthioides</i> DC.	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%
<i>Wedelia glauca</i> (Ort.)	100%	100%	100%	83,33%	33,33%	0%

\*seis planta por especie.

## ANEXO 8

### Riegos con solución de Cr<sup>6+</sup> aplicados a plantas en invernadero

Semanas	Numero de riegos	Cr <sup>6+</sup> (ppm)
1	1	1
2	2	1
3	3	1
4	3	10
5	3	100
6	3	1000

**ANEXO 9**  
**Calculo del oxígeno inyectado al sistema de humedal artificial de flujo subsuperficial (Castro, 2003)**

**I. Volumen de aire inyectado al sistema**

Se utiliza una técnica práctica que consiste en invertir una probeta graduada de 500 cm<sup>3</sup> llena de agua sobre un depósito conteniendo agua potable. A continuación, se introduce hasta la parte media de la probeta una manguerita de 0,25 cm de diámetro que transporta aire desde una compresora y se mide los cc/segundo de agua que el aire inyectado desplaza en la probeta.

**II. Calculo de oxígeno inyectado:**

**Datos**

- Cantidad de aire para desplazar 500 cc de agua:

$$\begin{array}{l} 500 \text{ cc} \rightarrow 80\text{s} \\ X \rightarrow 1\text{s} \\ X \rightarrow 6,25 \text{ cc/s} \\ X \rightarrow 375 \text{ cc/minuto} \end{array}$$

- Densidad del oxígeno = 1,309 g/L

- Composición del aire =  
21% de oxígeno  
79% de nitrógeno

- Cantidad de oxígeno en 1L de aire

$$1,309 \text{ g/L} \times 0,21 = 0,27489 \text{ g de } O_2/\text{L}$$

- ✓ En 1L de aire hay 0,27489 g de O<sub>2</sub>
- ✓ En 1 cc de aire hay 2,7489 x 10<sup>-4</sup> g de O<sub>2</sub>

- Aire inyectado al humedal en una relación de 1,25 vvm (volumen de aire /volumen de líquido por minuto)

$$375 \text{ cc/minuto}$$

➤ Oxígeno inyectado:

$$375 \text{ cc/minuto} \times 2,7489 \times 10^{-4} \text{ g de O}_2$$
$$1030,8375 \times 10^{-4} \text{ g de O}_2/\text{cc.min}$$

**III. Oxígeno inyectado a 9 humedales artificiales de flujo subsuperficial, cada uno con un volumen de 8 L**

$$[\text{O}_2] = 1030,8375 \times 10^{-4} \text{ g de O}_2/\text{cc.min} \times 9 \times 8$$

$$[\text{O}_2] = 74\,220,3 \times 10^{-4} \text{ g de O}_2/\text{cc.min}$$

$$[\text{O}_2] = 74\,220,3 \times 10^{-4} \times 10^{-3} \text{ mg de O}_2/10^{-3} \text{ L.min}$$

$$[\text{O}_2] = 74\,220,3 \times 10^{-4} \text{ mg de O}_2/\text{L.min}$$

$$[\text{O}_2] = 7,42203 \text{ mg/L O}_2/\text{min}$$

$$[\text{O}_2] = 7,42203 \text{ ppm O}_2/\text{min}$$

## ANEXO 10

### Obtención de la curva de calibración para la cuantificación de Cr<sup>6+</sup> (Guevarra, 2010)

Para la cuantificación de Cr<sup>6+</sup> por el método de difenilcarbazida se obtuvo una curva con estándares de 0,005 - 0,010 - 0,015 - 0,02 y 0,05 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>6+</sup> a partir de una solución de 500 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>6+</sup>. Las diluciones se realizaron en balones de 50 mL donde se colocó la solución ácida de difenil-carbazida, se agitó, se dejó reposar por 10 min y se leyó en espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Número de los matraces	Blanco	I	II	III	IV	V
Solución patrón de 500 mg L <sup>-1</sup> de Cr <sup>6+</sup>	0	0,25	0,50	0,75	1	2,5
Agua bidestilada	50	49,75	49,50	49,25	49	47,5
Correspondencia en mg/l de Cr	0	0,005	0,010	0,015	0,02	0,05
Solución de difenilcarbazida (mL)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Dejar en reposo durante 10 minutos para permitir un desarrollo completo de la coloración roja- violeta. Efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda 540 nm.