



## Capacidad fitorremediadora de *Ricinus communis* asociado a cepas bacterianas de suelos agrícolas cacaoteros contaminados con cadmio

### Phytoremediation capacity of *Ricinus communis* associated with bacterial strains in cocoa agricultural soils contaminated with cadmium

Merli Clarita Peña Zarate<sup>1</sup>; Jean Carlos Silva Alvarez<sup>1</sup>; Karol Noemi Vilchez Estrada<sup>1</sup>; Natacha Razanadrasina<sup>1</sup>; Nestor Valladolid<sup>2</sup>; Gerardo J. F. Cruz<sup>3</sup>; Eric Mialhe<sup>1</sup>; Benoit Diringer<sup>1</sup>

- 1 INCABIOTEC SAC. Jr. Filipinas 212-Tumbes, Perú.
- 2 Agronomes Et Vétérinaires Sans Frontières AVSF. Av. Horacio Urteaga 1818 Jesús Maria, Lima, Perú.
- 3 Departamento Académico de Ingeniería Forestal y Gestión Ambiental, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes, Av. Universitaria s/n, Pampa Grande, Tumbes, Perú.

\* Autor correspondiente: [merli.zarate08@gmail.com](mailto:merli.zarate08@gmail.com) (M. C. Peña Zarate).

ORCID de los autores:

M. C. Peña Zarate: <https://orcid.org/0009-0004-1654-5651>

J. C. Silva Alvarez: <https://orcid.org/0000-0002-7026-4955>

K. N. Vilchez Estrada: <http://orcid.org/0000-0002-3775-0759>

N. Razanadrasina: <https://orcid.org/0009-0008-9536-2288>

N. Valladolid: <https://orcid.org/0000-0002-4232-4818>

G. J. F. Cruz: <http://orcid.org/0000-0001-6096-0183>

E. Mialhe: <https://orcid.org/0000-0002-7952-6907>

B. Diringer: <http://orcid.org/0000-0001-6129-1751>

#### RESUMEN

Varias áreas cacaoteras del Perú reportan elevadas concentraciones de cadmio (Cd) en sus suelos y frutos, restringiendo las exportaciones de estas regiones. En este estudio se evaluó el potencial remediador de la especie *Ricinus communis* y de un consorcio bacteriano de cepas nativas aisladas de suelos cacaoteros naturalmente contaminados con Cd. Se aplicó un diseño factorial 3x3, teniendo como variables el tiempo de tratamiento (1, 2 y 3 meses) (factor A), los grupos experimentales (G1, *Ricinus*; G2, *Ricinus* + consorcio bacteriano y G3, consorcio bacteriano) (factor B) y las concentraciones de Cd (1,02 ppm, 1,64 ppm y 2,22 ppm) (factor C). De acuerdo con el análisis estadístico los meses de evaluación presentaron reducción de cadmio de mayor a menor el mes 3 seguido del mes 2 y mes 1. Finalmente, se concluye que el orden de mayor reducción de Cd en los grupos experimentales fue el siguiente: G2, G1 y G3 y al contrastar la variación de las tasas de remediación entre el mes 3 y el mes1, la mayor efectividad se presentó al 3er mes de evaluación con el grupo experimental conformado por el *Ricinus* más el consorcio bacteriano en la concentración de 2,22 ppm de cadmio.

**Palabras clave:** Remediación; cadmio; *Ricinus communis*; cacao.

#### ABSTRACT

Several cacao-growing areas of Peru report high concentrations of cadmium (Cd) in their soils and fruits, restricting exports from these regions. In this study, the remediation potential of *Ricinus communis* species and a bacterial consortium of native strains isolated from cocoa soils naturally contaminated with Cd was evaluated. A 3x3 factorial design was applied, having as variables the treatment time (1, 2 and 3 months) (factor A), the experimental groups (G1, *Ricinus*; G2, *Ricinus* + bacterial consortium and G3, bacterial consortium) (factor B) and the Cd concentrations (1.02 ppm, 1.64 ppm and 2.22 ppm) (factor C). According to the statistical analysis, the evaluation months (according to the order of highest to lowest Cd reduction) presented the following trend: month 3, month 2 and month 1. Finally, it is concluded that the order of highest Cd reduction in the experimental groups was as follows: G2, G1 and G3 and when contrasting the variation of the remediation rates between month 3 and month1, the highest effectiveness was presented at the 3rd month of evaluation with the experimental group conformed by the *Ricinus* plus the bacterial consortium at 2.22 ppm Cd.

**Keywords:** Remediation; cadmium; *Ricinus communis*; cacao.

Recibido: 31-08-2024.

Aceptado: 11-12-2024.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

## INTRODUCCIÓN

Perú es uno de los principales países exportadores de cacao (*Theobroma cacao*) de América Latina y el segundo exportador de cacao orgánico a nivel mundial (Charry et al. 2023). Sin embargo, a partir de enero del año 2019 este sector se vio grandemente afectado por la vigencia del nuevo reglamento de la Unión Europea (UE) N°488/2014, en el cual se redujeron los límites máximos permisibles de cadmio en varios productos alimenticios, incluyendo los productos derivados del cacao.

El cadmio (Cd) es uno de los metales pesados más comunes presentes en el suelo, que puede acumularse continuamente en la cadena alimentaria y, de forma consecuente, amenazar la salud humana (Dai et al. 2024). La principal problemática del cultivo relacionado a este metal es que la planta de cacao lo concentra en demasía; acumulándolo principalmente en sus frutos. Se ha reportado una mayor bioacumulación de Cd en la variedad nativa, que sobrepasa los límites máximos permitidos (Tuesta, 2022).

En estudios realizados a muestras de fruto de cacao de diversas zonas del Perú, se determinó que las regiones con los niveles más altos de cadmio fueron Amazonas, Piura, Tumbes y algunos sectores de Huánuco (Alliance Bioiversity & CIAT, 2020).

En las últimas décadas, se ha evaluado diferentes técnicas para reducir el contenido de cadmio en el fruto del cacao y sus derivados. Las técnicas convencionales consisten en la remoción o bloqueo del Cd de los suelos mediante enmiendas, biochar, regulación de pH, entre otros (Meter et al., 2019). Dentro de las alternativas con mayor potencial resaltan las técnicas de fitorremediación, el uso de plantas para eliminar, reducir o transformar elementos contaminantes y las técnicas de biorremediación que utilizan organismos o microorganismos para degradar compuestos contaminantes; por ser opciones más prácticas, económicas y amigables con el medio ambiente (Pérez, 2020).

Diferentes especies de plantas mostraron un potencial de fitorremediación (Guzmán-Castro et

al., 2022) siendo la especie *Ricinus communis* o comúnmente conocida como Higuierilla una de las más prometedoras para la remoción de metales pesados (Saidu et al., 2022).

*R. communis* es una planta de gran distribución geográfica, poco exigente al tipo de suelo, de rápido crecimiento y que además produce frutos que pueden ser utilizados en la producción de aceite (Tierra, 2022). Estudios anteriores mostraron que *R. communis* acumula el Cd principalmente en sus raíces y transloca de manera muy limitada el metal en sus frutos y hojas (Baudh et al., 2016); la siembra de higuierilla en campos contaminados por este metal permitiría extraer el Cd además de producir un fruto de valor agregado.

Dentro del ámbito de la biorremediación, algunos géneros bacterianos son esenciales para la fertilización de los suelos ya que participan en los ciclos de nutrientes mediante la descomposición de la materia orgánica, la fijación de nitrógeno (N) y la solubilización de diferentes elementos como el fósforo (P), potasio (K), minerales y microelementos (Marco et al., 2024). Además, las bacterias participan en la biodegradación de contaminantes mediante mecanismos de quelación, biosorción y promueven el crecimiento de las plantas, principalmente en la parte radical (Santoyo de la Cruz et al., 2023).

Los suelos contaminados con Cd pueden verse afectados en su diversidad microbiana, por ello es vital explorar bacterias resistentes o tolerantes a este metal y que a la vez presenten características de promoción de crecimiento vegetal (PGPR) para que puedan complementar a las especies de interés fitorremediador. Por tal razón, en este estudio se evaluó la capacidad de eliminación del Cd de suelos cacaoteros mediante la siembra de *R. communis* y por la adición de bacterias nativas PGPR aisladas a partir de suelos contaminados con Cd. La adición de bacterias permitió la biorremediación y reforzar el crecimiento vegetal.

## METODOLOGÍA

### Muestreo de parcelas cacaoteras

Se tomaron muestras de suelo y fruto de 3 parcelas pertenecientes a la Asociación de Productores Nativos Wampis Awajún del Río Santiago - APRONATIVOS de la provincia de Condorcanqui, departamento de Amazonas (Figura 1).

El muestreo de suelo se llevó a cabo según los lineamientos aprobados en la RM N°0451-2018-MINAGRI. Para el muestreo de grano húmedo, se seleccionaron al azar 15 mazorcas por hectárea, se realizó una homogenización y se separó un kilogramo para ser rotulado y almacenado.

Para determinar el contenido de cadmio y saber el estado situacional de esas parcelas se aplicaron los siguientes métodos; para las muestras de suelo se utilizó el Método EPA 6020A, mientras que para las muestras vegetativas se aplicó la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1.1994.

### Aislamiento de bacterias tolerantes a cadmio

A partir de las muestras de suelo recolectadas, se tomaron 5 g que fueron colocados en tubos Falcon con 45 ml del medio caldo Luria Bertani Broth (LBB) y se colocaron en un shaker a 150 rpm con una temperatura de 37 °C por 24 horas. Luego del tiempo de incubación, se realizaron diluciones seriadas. Las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  fueron sembradas por triplicado en placas Petri, las cuales contenían 20 g/l de medio LB, 15 g/l agar y se formularon 3 grupos de concentraciones con CdCl<sub>2</sub> (A=1,4 ppm, B=350 ppm y C=500 ppm). Luego de este proceso, se seleccionaron cepas según su morfología, se realizaron 3 pasos de purificación sucesiva y una tinción Gram.

En esta actividad también se incorporaron 9 bacterias proporcionadas por el laboratorio INCABIOTEC S.A.C. cepas que correspondían a estudios previos de aislamiento de muestras de la rizosfera de *Ricinus communis*.

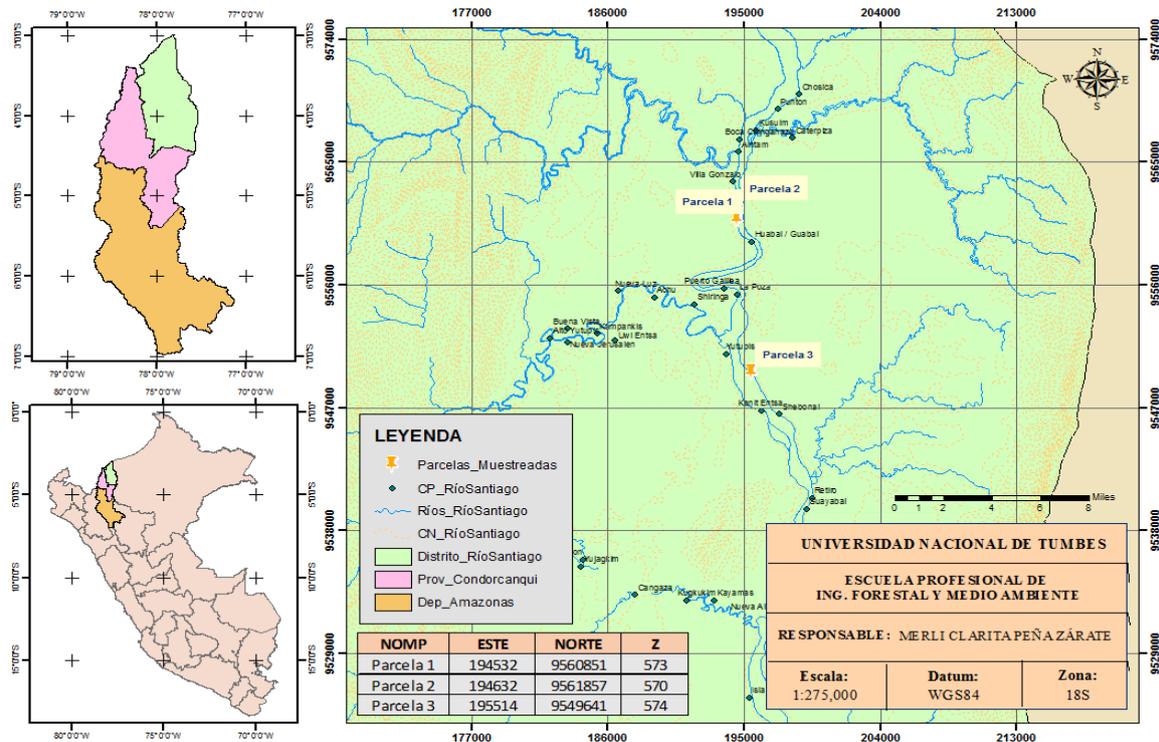


Figura 1. Mapa de ubicación de las parcelas seleccionadas.

### Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Para determinar si las bacterias seleccionadas tenían la capacidad de promoción de crecimiento vegetal se utilizó el medio agar NBRIP (fosfato), medio agar BSK (potasio) y medio líquido ASBHY (nitrógeno). Para el caso de las bacterias solubilizadoras de fosfato (P) y potasio (K), la selección de las cepas se realizó mediante el método de disco en placa y esta se basó en la medición de sus halos mediante el índice de solubilización (IS), seleccionando aquellas que presenten un índice  $\geq 2$  mm. En cambio, en el caso de las bacterias fijadoras de nitrógeno (N), se consideraron aquellas que mostraron crecimiento celular mediante la medición de densidad óptica (OD 600) durante 48 h, eligiendo aquellas por encima de 0,5 de OD.

### Identificación de las cepas bacterianas

Las cepas seleccionadas fueron identificadas por secuenciamiento parcial del gen 16S ARNr. Para ello se realizó el proceso de extracción y cuantificación del ADN bacteriano utilizando el protocolo PBS descrito por Deza et al. 2016; seguido de la PCR dirigida a la amplificación del gen 16S ARN ribosomal con los primers universales 27-F y 1492-R y finalmente la visualización del producto de PCR por electroforesis. Los amplicones obtenidos de estas bacterias, se enviaron a secuenciar a la empresa MACROGEN USA. El análisis bioinformático de las secuencias se realizó utilizando los softwares MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 (Tamura, Stecher & Kumar, 2021) y NCBI-Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### Formulación de consorcios

Posteriormente, para realizar el último filtro de selección de las mejores cepas bacterianas se

realizó una prueba de compatibilidad y/o antagonismo, para descartar uno de los principales problemas que presentaría la futura inoculación, la inhibición entre las cepas bacterianas. Para ello, se siguió la metodología de detección con sensi disco de Pérez et al. (2014).

Se efectuó un sembrado masivo de 25  $\mu$ l de cada bacteria a una dosis de  $8 \times 10^8$  UFC/ml, se depositaron discos de papel filtro estériles de 6mm de diámetro, los cuales fueron inoculados con 10  $\mu$ l de cada una de las cepas a enfrentar; estos fueron colocados en la caja Petri de manera radial. Por último, las placas fueron incubadas a 37 °C por 72 horas, realizándose una lectura cada 24 horas. Reportándose aquellas que crecían con normalidad, así como aquellas que presentaran un halo de inhibición o no crecimiento y formulándose la mejor combinación de bacterias como el consorcio a trabajar.

### Masificación de bacterias

Para este experimento se utilizaron los medios LB y melaza al 2%. Primero se reactivaron las cepas añadiendo 100  $\mu$ l de bacteria en 900  $\mu$ l de caldo LB, se dejan en crecimiento en el shaker a 37 °C con 130 rpm por 24 h. Consecutivamente el cultivo bacteriano obtenido en 1 ml se añade a 9 ml de caldo LB. Posteriormente los 10 ml se añaden a 90 ml de caldo LBB, en cada paso se repite el crecimiento bacteriano con las mismas condiciones por 24 h. Luego, los 100 ml obtenidos se añaden a 400 ml de melaza diluida al 2% y se deja en crecimiento por el mismo periodo de tiempo. Se traspasan a un volumen total de 1 litro y finalmente a 5 litros, el cual corresponde individualmente a cada cepa bacteriana. También se deben tener en cuenta las condiciones de pH y nivel de OD.

**Suelo experimental**

El suelo experimental fue extraído de la parcela agrícola con código S1 (Tabla 1) de la asociación APRONATIVOS del departamento de Amazonas, que fue analizado en el muestreo inicial. La cantidad colectada corresponde a los 30 cm de la capa superior del suelo.

La determinación del contenido de Cd en el suelo se determinó mediante el método EPA 6020A y se obtuvo como resultado 1,043 ppm. Este es un valor relativamente alto y cercano al dato establecido en el Estándar de Calidad Ambiental para uso de suelo agrícola (1,4 ppm de Cd).

**Cálculo del suelo para el plan experimental**

Se dispuso de 3 tamaños de macetas para las 3 evaluaciones propuestas (1.º, 2.º y 3.º mes). La capacidad de las macetas fue de 1 kg, 15 kg y 35 kg de suelo respectivamente.

Se formuló 3 grupos experimentales: G1 (*Ricinus*), G2 (*Ricinus* + consorcio bacteriano) y G3 (consorcio bacteriano). Se consideraron 3 tratamientos que correspondían a las 3 concentraciones de cadmio 1,043 ppm (suelo natural), 2,5 ppm y 5 ppm.

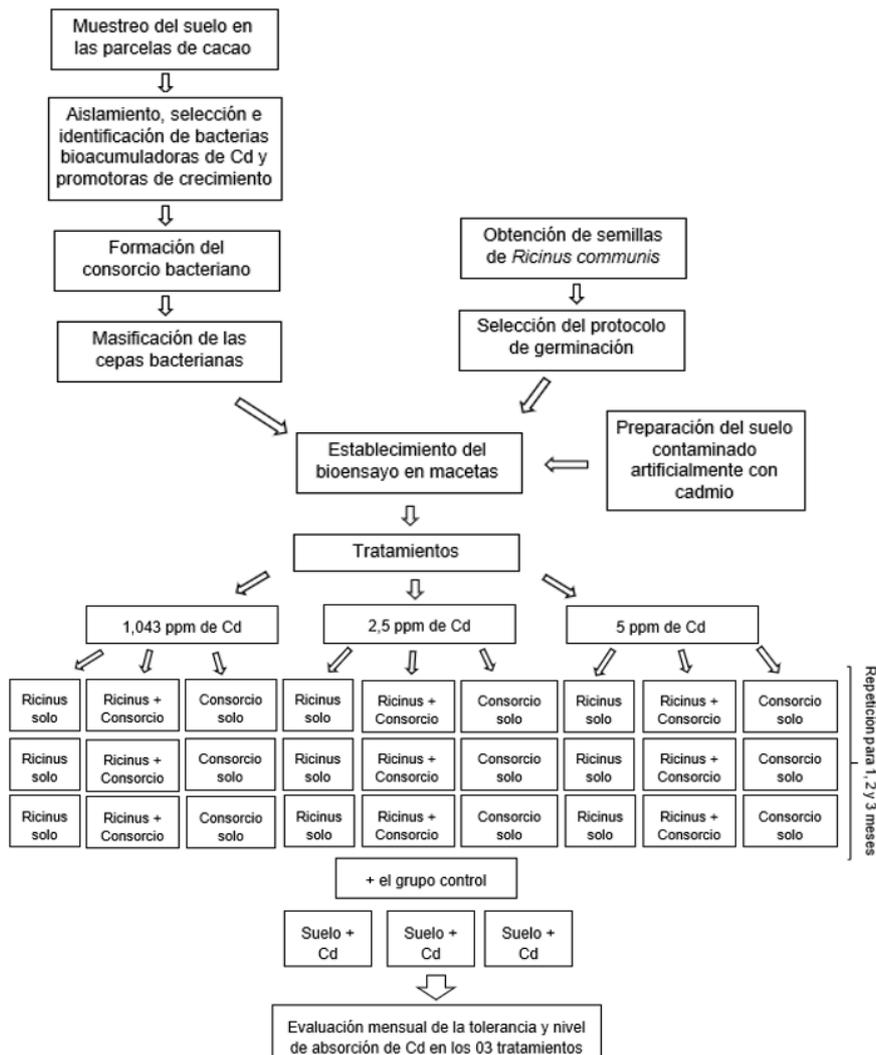
Se realizó el diseño experimental en 90 macetas con un total de 1530 kg de suelo, divididos en 510 kg de suelo por concentración de Cd.

**Cálculo de adición de Cd para cada tratamiento**

Se disolvió 0,93 g y 2,52 g de cloruro de cadmio ( $CdCl_2$ ) al 80% en 5 L de agua para obtener el 2do tratamiento (2,5 ppm de Cd) y 3er tratamiento (5 ppm de Cd) respectivamente. La adición de Cd al suelo se realizó mediante aspersión en botellas rociadoras para obtener una mezcla homogénea. El suelo fue removido interdiariamente por dos semanas; luego, una muestra de suelo fue enviada a analizar para verificar la concentración final de los tratamientos.

**Establecimiento del experimento**

El experimento se realizó con 3 repeticiones de cada tratamiento y de cada concentración más un grupo control. Una vez colocado el suelo en las macetas, las semillas fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio al 0,5% por 30 min y luego enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. Seguidamente las semillas fueron colocadas en los tratamientos correspondientes a una profundidad de 3 cm. De la misma forma, el consorcio bacteriano fue añadido a los tratamientos correspondientes en una proporción de 400 ml/25 kg de suelo (Liu et al. 2018). El establecimiento del experimento se resume en la Figura 2.



**Figura 2.** Esquema metodológico de las actividades realizadas durante toda la investigación.

**Tabla 1**

Concentración de Cd en las muestras de suelo y fruto de las parcelas cacaoteras

Muestra	Localidad/distrito provincia/departamento	Concentración de Cd en suelo (mg/kg)	Concentración de Cd en fruto de cacao (mg/kg)
S1	Huabal/Río Santiago/Condorcanqui /Amazonas	0,6079	1,15
S2	Huabal/Río Santiago/Condorcanqui /Amazonas	0,6532	2,10
S3	Yutupis/Río Santiago/Condorcanqui /Amazonas	0,3366	0,97

### Caracterización morfológica

Durante los meses de crecimiento, se realiza un control constante de las plántulas y un riego interdiario. Conforme las plántulas fueron creciendo se incrementó el volumen de riego según los requerimientos de la planta. Al término de cada mes se tomaron las medidas del grupo de Ricinus a

evaluar, tales como: longitud del tallo, longitud de la raíz y peso fresco y seco de la raíz.

### Evaluación de la tolerancia y nivel de absorción

Se evaluó mensualmente los niveles de Cd en el suelo de las macetas, por un periodo de 3 meses. Al contarse con 3 repeticiones por tratamiento, se procedió a realizar una mezcla para finalmente coleccionar 1 kg de suelo, volumen que se requiere para el análisis.

Para la medición de cadmio se utilizó el Método SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 3111 B, 23rd Ed. (Revisión 2019). 2017. Se procesó los datos obtenidos con un sistema factorial 3x3. El 1er factor estuvo conformado por el tiempo de evaluación (1er, 2do y 3er mes), el 2do factor por los grupos experimentales G1 (el cultivo de Ricinus), G2 (el cultivo de *Ricinus communis* suplementado con el consorcio bacteriano) y G3 (el consorcio bacteriano) y el 3er factor por los tratamientos (las concentraciones de Cd). Con estas variables se generó una prueba paramétrica de análisis de varianza ANOVA, con un modelo estadístico sin repeticiones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Resultados del muestreo y selección de las mejores cepas bacterianas

Según los datos obtenidos en la Tabla 1, se denota que los niveles de Cd fueron mayores en los granos de cacao que en el suelo del cual la planta obtiene el contaminante, presentándose un incremento del 89,18% en la muestra S1, un 221,49% en la muestra S2 y un 188,18% en la muestra S3.

La concentración de Cd en las muestras de suelo no supera el dato establecido en el Estándar de Calidad Ambiental para uso de suelo agrícola (1,4 ppm de Cd); sin embargo, la concentración de Cd en las muestras de fruto de cacao si superan el rango permitido en el reglamento N° 488/2014 de la Unión Europea para los productos específicos de cacao, que va desde 0,1 ppm hasta 0,8 ppm.

El primer filtro de selección del proceso consistía en que las bacterias escogidas tuvieran los valores óptimos en cada uno de los 3 medios selectivos de crecimiento. Para los medios NBRIP y BSK se escogieron las bacterias con un índice de solubilización (IS)  $\geq 2$  cm (a excepción de la cepa AS1A1 que no cumple con un valor, pero tiene el mayor IS en el medio NBRIP) y para el medio ASBHY aquellas que reporten más de 0,5 de OD. Teniendo un total de 13 bacterias, 11 bacterias en el primer grupo (muestras de suelo cacaotero) y 2 bacterias en el segundo grupo (muestras de suelo de Ricinus).

Se realizó la identificación molecular de las 13 bacterias seleccionadas previamente (Tabla 2), obteniendo un 76,92% de identificación hasta el nivel de especie, un 7,69% de identificación hasta el nivel de familia y un 15,38% que no se logró identificar debido a que los resultados presentaban un bajo porcentaje de identidad (Tabla 3).

**Tabla 2**

Bacterias seleccionadas según resultados en medios de crecimiento vegetal. Muestras AS1A1-AS3C24 provienen de suelos cacaoteros de Amazonas, RB7-RB8 fueron aislados de la Rizosfera de *Ricinus communis* de Tumbes

Código Final	IS (48 h)		OD 600 ASBHY
	NBRIP	BSK	
AS1A1	6,2	1,5	0,820
AS1A4	3,4	2,8	0,633
AS3A12	3,4	2,7	0,871
AS1C13	4,1	3,0	0,707
AS2C14	3,7	2,6	0,948
AS2C15	5,1	3,9	2,679
AS2C16	3,6	2,8	1,001
AS2C17	3,9	3,2	0,971
AS2B19	4,9	4,4	0,875
AS3C23	4,9	4,9	1,001
AS3C24	4,7	3,6	1,041
RB7	2,8	2,2	0,775
RB8	2,4	2,4	0,822

**Tabla 3**

Resultados del secuenciamiento molecular

Código Bacteriano	Identificación	Identidad
AS1A1	<i>Klebsiella aerogenes</i>	99,40%
AS1A4	<i>Escherichia coli</i>	99,80%
AS2C12	<i>Serratia marcescens</i>	99,67%
AS1C13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,40%
AS2C14	Porcentaje no admitido	90,27%
AS2C15	<i>Enterobacter aerogenes</i>	99,66%
AS2C16	<i>Yersiniaceae</i>	95,25%
AS2C17	Porcentaje no admitido	80,61%
AS2B19	<i>Burkholderia contaminans</i>	99,32%
AS3C23	<i>Enterobacter sp.</i>	99,66%
AS3C24	<i>Klebsiella aerogenes</i>	99,33%
RB7	<i>Klebsiella aerogenes</i>	99,73%
RB8	<i>Bacillus aryabhatai</i>	99,80%

### Elección del consorcio bacteriano

No se presentaron casos en los que existieran halos de inhibición; sin embargo, el hecho de que algunas bacterias no mostraran crecimiento también denota una forma de incompatibilidad.

Luego de realizarse todas las combinaciones el consorcio elegido según esta prueba de compatibilidad, así como por los valores presentados en las pruebas previas, lo constituyen los siguientes códigos bacterianos:

RB7, AS1A1, AS1C13 y AS2C17

### Resultados de concentración de Cd en los tratamientos

Los resultados de la concentración de Cd en los tratamientos fueron los siguientes: T1 (1,02 ppm de Cd), T2 (1,64 ppm de Cd) y T3 (2,2 ppm de Cd). Por tanto, esos fueron los valores base asumidos para realizar las mediciones durante el periodo de evaluación del experimento.

**Tabla 4**

Concentraciones de Cd (mg/kg) y porcentajes de reducción durante los meses de evaluación

Concentraciones de Cd (mg/kg)	Grupos experimentales	Meses de evaluación		
		Mes 1	Mes 2	Mes 3
C1	G1	0,93	0,86	0,86
	G2	0,94	0,91	0,87
	G3	0,88	0,93	0,87
C2	G1	1,35	1,33	1,31
	G2	1,35	1,25	1,33
	G3	1,22	1,33	1,22
C3	G1	2,76	2,94	2,65
	G2	2,72	2,67	2,41
	G3	2,42	2,55	2,47

De los resultados expuestos en la Tabla 4, se observa el porcentaje de disminución de cadmio luego de finalizar el proceso de fitorremediación de los tres grupos experimentales (G1: Ricinus, G2: Ricinus + consorcio bacteriano y G3: consorcio bacteriano) en los principales tratamientos durante los meses de evaluación. Aquí se observa la evolución de absorción entre el mes 1 y el mes 3 respectivamente. Basándonos en los resultados de eliminación de cadmio en suelos, se puede concluir que las mejores tasas de eliminación fueron en el grupo G2 (Ricinus + consorcio bacteriano) en las 3 concentraciones (7,5% G2C1, 1,5% G2C2 y 11,4% G2C3), obteniendo un promedio de 7% de eliminación después de 3 meses de tratamiento.

En el análisis general de los datos, se denota el siguiente orden de efectividad de los tratamientos: G2, G1 y G3, entendiéndose que los elementos empleados para la remoción cumplen un mejor papel cuando se encuentran juntos.

### Análisis de varianza (ANOVA) 3 factores sin replicación

El factor A representa los meses de evaluación (M1, M2 y M3), el factor B representa los grupos experimentales (G1, G2 y G3) y el factor C representa las concentraciones de Cd (C1 y C2), cabe resaltar que para este análisis no se consideró

la concentración 3 por ser un valor inferior a los resultados reportados (Tabla 5).

**Tabla 5**

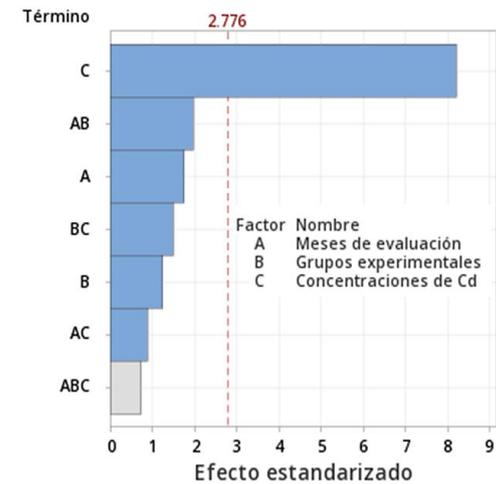
Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado (ajustado)	R-cuadrado (pred)
2,19036	96,11%	83,47%	21,22%

Fuente: Software estadístico Minitab.

En la Figura 3 se obtienen los resultados para un nivel de confianza del 95%, en el cual se concluye que los efectos del modelo planteado no son significativos en las interacciones entre los factores. Realizando los contrastes al nivel de significancia de 0,05, tanto con el valor p como la comparación con el valor correspondiente a la  $f$  teórica y validado por el reporte del software Minitab, se concluye que es significativo sólo el efecto del factor C. Por tanto, a continuación, se mostrarán las gráficas individuales, así como las interacciones que comprenden este factor.

(la respuesta es Porcentaje de absorción,  $\alpha = 0.05$ )

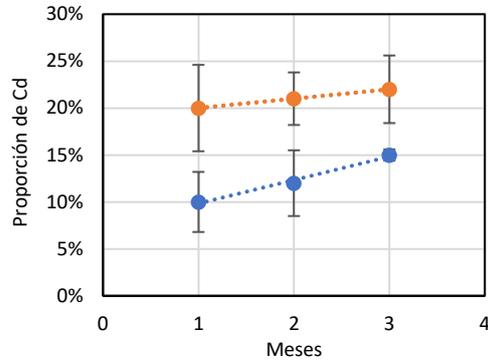


**Figura 3.** Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para los factores evaluados

Se visualiza que el punto de intercepción que presenta el mayor valor corresponde al 3er mes en la concentración 2 de Cd (Figura 4). Asimismo, se demuestra una tendencia a incrementar el nivel de absorción conforme los meses de evaluación incrementan. Baudh et al. (2016) evaluaron el crecimiento y biomasa de *R. communis*, así como la acumulación, translocación y división de Cd en diferentes partes de la planta. El periodo evaluado fue de 8 meses en suelo contaminado con Cd (17,50 mg Cd kg<sup>-1</sup> suelo). El resultado fue que las plantas estabilizaron el 51% de Cd, acumulándolo principalmente en sus raíces y el resto se translocó al tallo y las hojas. Es un valor superior que corresponde al tiempo evaluado en su estudio, por lo que a mayor edad de la planta (mayor crecimiento de vellosidades radiculares) y, por tanto, el resultado de absorción también aumenta.

Boda et al. (2017) propuso el uso del Ricino como cultivo de fitorremediación multipropósito para la fitoestabilización y revegetación de suelos conta-

minados con residuos periurbanos, puesto que presenta resistencia a la toxicidad por metales pesados. Con este estudio, se refuerza la premisa de que el *R. communis* L. puede emplearse para la recuperación de suelos contaminados con metales pesados, especialmente para aquellos contaminados con Cd.



**Figura 4.** Gráfica de la interacción entre los meses de evaluación y las concentraciones de Cd.

Dentro de las publicaciones que apoyan la eficiencia de un consorcio bacteriano como el propuesto en esta investigación, se encuentran estudios como el de Tovar et al. (2021) donde se evaluó la capacidad de resistencia al cadmio de cinco cepas bacterianas, exponiéndolas a un rango de 2 mg/ml a 10 mg/ml de cadmio. Lo cual apoya al resultado de tolerancia evaluado en la primera etapa del presente estudio, en el que se trabajaron 3 grupos de aislamiento bacteriano: 1,4 ppm, 350 ppm y 500 ppm de cadmio.

Contrastando los resultados del presente experimento, se confirmó que el mejor grupo experimental era el conformado por el Ricinus más el consorcio bacteriano, lo que significa que ambos elementos desarrollan mejor sus funciones de absorción del metal en conjunto que por separado. También se demuestra la potencialidad que tienen las bacterias utilizadas de los géneros: *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Bacterium*. Que resurgen como una alternativa de solución frente a la problemática de acumulación de cadmio en suelos de importancia agrícola.

## CONCLUSIONES

Se lograron aislar 26 colonias bacterianas de las muestras de suelo, las cuales presentaron un 96,15% de crecimiento en medio agar NBRIP, un 50% de crecimiento en medio agar BSK y un 80,77% en el medio líquido ASBHY. Finalmente, se trabajó con 13 bacterias que obtuvieron valores óptimos en los 3 medios de crecimiento vegetal, 11 bacterias que provenían del muestreo de suelo y 2 bacterias provenientes de la rizosfera de Ricinus. Se obtuvo la identificación molecular de las 13 cepas bacterianas con una identidad entre el 80,61% hasta un 99,80%. Obteniendo un 76,92 % de identificación hasta el nivel de especie y un 7,69 % de identificación hasta el nivel de familia.

De acuerdo al análisis estadístico, el orden de reducción de Cd de mayor a menor según los grupos experimentales fue: G2, G1 y G3 y según los meses de evaluación presentó la siguiente tendencia: Mes 3, Mes 2 y Mes 1.

Tanto *R. communis* como el consorcio bacteriano evaluado en este estudio demostraron una buena absorción de niveles de cadmio; resultando de mayor interés realizar la evaluación por un periodo más prolongado para poder definir los mecanismos moleculares intervinientes y la detoxificación futura del fruto de *T. cacao*.

## AGRADECIMIENTOS

A la empresa INCABIOTEC S.A.C por darme la confianza y permitirme ser parte de su equipo de trabajo. A la ONG AVSF y a la fundación RABOBANK por ser el apoyo técnico y financiero para que todo

esto se llevara a cabo. Sin su ayuda no habríamos podido desarrollar este tema de investigación y presentar como un sub producto este primer artículo científico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alliance Bioversity & CIAT (28 de mayo de 2020). *Cadmio en el cacao peruano: enmarcando el problema e investigando soluciones*. <https://alliancebioversityciat.org/stories/cadmio-en-el-cacao-peruano-enmarcando-el-problema-e-investigando-soluciones>
- Baudh, K., Singh, K., & Singh, R. (2016). *Ricinus communis* L. a value-added crop for remediation of cadmium contaminated soil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 96(2), 265-269. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1669-3>
- Boda, R., Majeti, N., & Suthari, S. (2017). *Ricinus communis* L. (castor bean) as a potential candidate for revegetating industrial waste contaminated sites in peri-urban Greater Hyderabad: remarks on seed oil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(24), 19955-19964. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9654-5>
- Charry, A., Torres, N., Fonseca, C., & Narjes, M. (2023). *The cocoa value chain in Ucayali: Analysis to identify business models with agro ecological potential*. Working Document. 31 p. <https://hdl.handle.net/10568/136134>
- Dai, D., Hu, H., Wen, J., Chen, H., Chen, G., & Cui, X. (2024). *Cunninghamia lanceolata* (Lambert) Hooker: A Promising Candidate for Phytoremediation of Cd-Contaminated Soils. *Forests*, 15(1), 115. <https://doi.org/10.3390/f15010115>
- Deza, C., Sánchez, D., Silva, J., García, R., & Mialhe, E. (2016). Identificación molecular de bacterias asociadas a la filofera de plantas de arroz (*Oryza sativa* L), mediante técnicas de cultivo microbiano. *Manglar*, 12(1), 25-36.
- Díaz-Castillo, N., Sánchez, D., Oyola, M., Masías, P., García-Seminario, R., Cedeño, V., & Mialhe, E. (2018). Implementación de una estrategia de espectrometría de doble masa MALDI TOT/TOF para la identificación molecular de bacterias del intestino de trips del banano. *Manglar*, 15(1), 57-65.

- Feng, G., Xie, T., Wang, X., Bai, J., Tang, L., Zhao, H. & Zhao, Y. (2018). Metagenomic analysis of microbial community and function involved in Cd-contaminated soil. *BMC microbiology*, 18(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1152-5>
- Garcilazo Saenz, A. & Barrios Ponte, M. (2019). *Capacidad fitorremediadora de Ricinus communis "Higuerilla" sobre arsénico y plomo de suelos contaminados del sector La Porfía Pataz, 2019*. [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/47891>
- Guzmán-Castro, V., Razo-Zárate, R., Vázquez-Cuevas, G. M., & Hernández-Juárez, M. (2022). Factores que condicionan la empleabilidad de las plantas en fitorremediación. *Pádi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(19), 42-49. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10i19.9193>
- Li, Q., Fu, Q., Zhu, J., Sun, Y., He, H., & Hu, H. (2023). Endophytic Bacteria in *Ricinus communis* L.: Diversity of Bacterial Community, Plant– Growth Promoting Traits of the Isolates and Its Effect on Cu and Cd Speciation in Soil. *Agronomy*, 13(2), 333. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020333>
- Liu, Y., Tie, B., Li, Y., Lei, M., Wei, X., Liu, X., & Du, H. (2018). Inoculation of soil with cadmium-resistant bacterium *Delftia* sp. B9 reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.081>
- López Cuadra, Y., Cunias Rodríguez, M. & Carrasco Vega, Y. (2020). El cacao peruano y su impacto en la economía nacional. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(3), 344-352.
- Marco Montori, P., Isla Climente, R., Silva Araujo, E., & González García, V. (2024). Influencia de las prácticas de manejo en rotaciones de cultivos extensivos sobre la microbiota del suelo. Trabajos Completos Presentados En El X Simposio Nacional Sobre El Control De La Degradación Y Recuperación De Suelos, 2024. P. 509-512. <http://hdl.handle.net/10532/7153>
- Mendoza-Hernández, J. C., Morales, M. C., Osorio, G. P., Sánchez, A. C., & De Jesús, K. E. D. R. (2023). Analysis of the Physiological Response and Reactive Oxygen Species in Castor Oil Plant (*Ricinus Communis*) in the Phytoremediation Processes with Plant Growth Promoter Bacteria (PGPB). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 110(6), 105. <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03738-0>
- Mendoza-López, K., Mostacero-León, J., López-Medina, S., Gil-Rivero, A., Anthony, J. y Villena-Zapata, L. (2021). Cadmio en plantaciones de *Theobroma cacao* L. "cacao" en la región San Martín (Lamas). Perú. *Manglar*, 18(2), 169-173. <http://dx.doi.org/10.17268/manglar.2021.022>
- Meter, A., Atkinson, R. J., & Laliberte, B. (2019). *Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe: Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación*. Bioersity International, Roma, octubre 2019.
- MIDAGRI (2020). *Observatorio de Commodities: Cacao*. Boletín de publicación trimestral, octubre-diciembre.
- Pérez Arriero, A. (2020). *Estado actual de la contaminación del suelo en Europa: la fitorrecuperación como tecnología plausible para abordar el problema*. Trabajo Fin de Grado, E.T.S. de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (UPM), Madrid. <https://oa.upm.es/66127/>
- Pérez, R., González, T., & Muñoz, J. (2014). Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y maíz (*Zea Mays*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(3), 53-60.
- Saidu, H., Lass, I. N., Mahmoud, A. B., Salau, O. A., & Abdullahi, N. (2022). *Ricinus communis*: An Efficient Biological Tool for Heavy Metal Removal from Contaminated Soil. *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology*, 5(1), 1-5. <https://doi.org/10.54987/jebat.v5i1.666>
- Santoyo de la Cruz, M. F., Gardezi, A. K., Carrillo Castañeda, G., Ortega Escobar, H. M., Mancilla Villa, O. R., Rubiños Panta, J. E., López Buenfil, J. A., Larque Saavedra, M. U., Haro Aguilar, G., & Ali Gamboa, C. A. (2023). Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Medicago sativa* L.) en dos tipos de suelo, cobre y composta. *Acta Universitaria*, 33, 1-14. <https://doi.org/10.15174/au.2023.3569>
- Sedeño Mota, J. C. (2021). *Formación de un consorcio bacteriano para el manejo orgánico de Lasiodiplodia pseudotheobromae, agente causal de la pudrición en frutos de mango*. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana].
- Sterckeman, T., & Thomine, S. (2020). Mechanisms of cadmium accumulation in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(4), 322-359. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1792179>
- Tamura K, Stecher G & Kumar S. (2021). *MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (Version 11) [Software]. *Mol Biol Evol*. 25;38(7):3022-3027.
- Thanh, N. C., Narayanan, M., Saravanan, M., Chinnathambi, A., Alharbi, S. A., Brindhadevi, K., ... & Pugazhendhi, A. (2023). Bio/phytoremediation potential of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Ricinus communis* on metal contaminated mine sludge. *Chemosphere*, 339, 139739. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139739>
- Tierra Ayala, B. S. (2022). *Diseño del proceso de extracción de aceite de higuerilla (Ricinus Communis L.) en la provincia de Chimborazo mediante el estudio de las variables óptimas en cada etapa*. [Trabajo de fin de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo] <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/17688>
- Tovar Vélez, V., Jaramillo Mazo, C., & Correa Álvarez, J. (2021). *Evaluación de bacterias cadmio tolerantes aisladas a partir de suelos provenientes de una finca cacaotera del Urabá antioqueño*. [Trabajo de fin de grado, Universidad EAFIT] <http://hdl.handle.net/10784/30799>
- Tuesta Gomez, F. A. (2022). *Bioacumulación del cadmio (Cd) en plantaciones de cacao (Theobroma cacao L.) asociadas a la cooperativa APROCAM en la región Amazonas*. [Trabajo de fin de grado, Universidad Toribio Rodríguez de Mendoza] <https://hdl.handle.net/20.500.14077/2872>
- Yeboah, A., Lu, J., Gu, S., Shi, Y., Amoanimaa-Dede, H., Agyenim-Boateng, K. G., & Yin, X. (2020). The utilization of *Ricinus communis* in the phytomanagement of heavy metal contaminated soils. *Environmental Reviews*, 28(4), 466-477. <https://doi.org/10.1139/er-2020-0016>