

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias de la Vida

Título del trabajo

Fitotoxicidad de aguas residuales biorremediadas en

Phaseolus vulgaris

VIDA-415

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Bióloga

Presentado por:

Ariana Mirieli Márquez Veliz

Guayaquil - Ecuador

Año: 2025

Dedicatoria

Dedico este proyecto a mis padres, quienes con su esfuerzo diario me brindaron un hogar seguro, cómodo y reconfortante, donde siempre puedo regresar después de largas y desgastantes jornadas académicas. A ellos, por ser el apoyo fundamental en este camino.

A mi mamá, por ser la primera en levantarse cada día, por prepararme desayunos y lonches, y por estar siempre pendiente de todo lo que debo llevar o hacer. Gracias por saber leer mis estados de ánimo al regresar a casa después de un día abrumador y por ofrecerme su deliciosa comida, que logra calmar mi mente.

A mi papá, por elegir salir a trabajar cada día para cubrir los gastos del hogar. Agradezco también por escucharme cuando estoy preocupada por algo y por ser el espacio donde puedo desahogarme cuando la vida se vuelve pesada.

A mis hermanos, que me han brindado comprensión y compañía en este trayecto. A Angie, por enseñarme a ser independiente y recordarme que siempre puedo con todo. A José, por aconsejarme a avanzar y apoyarme en lo que he necesitado. Y a Josué, por ser comprensivo, cariñoso y por estar a mi lado en cada momento.

Agradecimientos

A Dios, por brindarme la fortaleza y claridad necesarias para culminar esta etapa.

A mi familia, por su apoyo incondicional y por ser el pilar que me impulsó en cada momento de este camino académico, sin ellos no hubiera podido llegar aquí.

A PhD. Nardy Diez, mi tutora, por su guía, paciencia y valiosos aportes que orientaron el desarrollo de esta investigación.

A la técnica de laboratorio Marisa, por su paciencia, enseñanza y acompañamiento en cada paso del desarrollo de este proyecto.

A mis amigas, por ser ese lugar seguro, lleno de risas, empatía y una amistad genuina que me acompañó durante este proceso.

Declaración Expresa

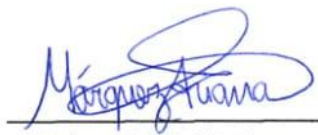
Yo Ariana Mirieli Márquez Veliz acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 25 de Mayo del 2025.



Ariana Mirieli Márquez Veliz

Evaluadores

Luis Galarza Ph.D

Profesor de Materia

Nardy Diez Ph.D

Tutor de proyecto

Resumen

La industria textil genera efluentes con altos niveles de colorantes sintéticos contaminantes, lo que representa un riesgo significativo para el medio ambiente y la agricultura. Este proyecto tiene como objetivo evaluar la fitotoxicidad del agua residual textil tratada con una cepa bacteriana en *Phaseolus vulgaris*, planteando la hipótesis de que la biorremediación disminuirá la toxicidad del efluente, permitiendo su reutilización segura. La justificación radica en la necesidad de alternativas sostenibles y económicas para el tratamiento de aguas residuales textiles y su evaluación post tratamiento.

El desarrollo del proyecto se realizó en un biorreactor de 600 mL, utilizando agua residual sintética contaminada con Coomassie Brilliant Blue R-250. Tras 13 días de incubación con la cepa C6, se aplicó el efluente tratado en una concentración del 10 % en bioensayos de germinación y crecimiento de *P. vulgaris*, siguiendo condiciones controladas.

Los resultados mostraron que se alcanzó una degradación del 72,43 % del tinte, y el efluente tratado presentó efectos comparables al agua destilada en términos de germinación, clorofila y biomasa seca.

Se concluye que el efluente tratado mediante biorremediación constituye una alternativa viable para el reúso agrícola, alineándose con criterios de sostenibilidad y mitigación de impactos ambientales.

Palabras clave: Agua residual textil, biorremediación, Coomassie Brilliant Blue, fitotoxicidad, *Phaseolus vulgaris*.

Abstract

*The textile industry generates effluents with high levels of synthetic dyes, posing a significant risk to the environment and agriculture. This project aims to evaluate the phytotoxicity of textile wastewater treated with the bacterial strain C6 in *Phaseolus vulgaris*, hypothesizing that bioremediation will reduce the toxicity of the effluent, allowing for safe reuse. The justification lies in the need for sustainable and cost-effective alternatives for treating textile wastewater.*

*The project was developed in a 600 mL bioreactor, using synthetic wastewater contaminated with Coomassie Brilliant Blue R-250. After 13 days of incubation with the strain C6, the treated effluent was applied at a concentration of 10% in germination and growth bioassays of *P. vulgaris*, under controlled conditions.*

The results showed a degradation of 72.43% of the dye, and the treated effluent exhibited effects comparable to distilled water in terms of germination, chlorophyll, and dry biomass.

It is concluded that the effluent treated through bioremediation constitutes a viable alternative for agricultural reuse, aligning with sustainability criteria and mitigating environmental impacts.

Keywords: *wastewater treatment, sustainability, phytotoxicity, bioremediation, agriculture.*

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	6
Abstract	7
Abreviaturas.....	10
Simbología	11
ÍNDICE DE IMÁGENES	12
ÍNDICE DE TABLAS	12
CAPÍTULO 1	13
1. Introducción	14
1.1 Introducción	14
1.2 Descripción del problema.....	15
1.3 Justificación del problema.....	16
1.4 Objetivos.....	17
1.4.1 Objetivo general:	17
1.4.2 Objetivos específicos:	17
1.5 Marco teórico.....	17
1.5.1 Contaminación por tintes textiles.....	17
1.5.2 Biorremediación microbiana.....	18
1.5.3 Evaluación de la fitotoxicidad de aguas residuales en plantas.....	19
CAPÍTULO 2.....	21
2 Metodología	22
2.1 Aislamiento y activación bacteriana	23
2.2 Preparación de aguas residuales sintéticas	23
2.3 Siembra y condiciones experimentales	23

2.4	Diseño experimental y tratamientos	24
2.5	Evaluación de variables fisiológicos	24
2.6	Análisis estadístico	25
CAPÍTULO 3.....		26
3	Resultados y discusión.....	27
3.1	Obtención del efluente tratado	27
3.2	Evaluación de la fitotoxicidad mediante variables fisiológicas	28
3.2.1	Germinación.....	28
3.2.2	Longitud de raíz	29
3.2.3	Longitud de hipocótilo	30
3.2.4	Clorofila	31
3.2.5	Longitud de tallo	32
3.2.6	Número de hojas	33
3.2.7	Longitud de raíz principal de las plántulas	34
3.2.8	Biomasa húmeda.....	35
3.2.9	Biomasa seca.....	36
CAPÍTULO 4.....		38
4	Conclusiones y recomendaciones	39
4.1	Conclusiones	39
4.2	Recomendaciones.....	40
Referencias.....		42

Abreviaturas

ANOVA Análisis de Varianza

AN Agar nutritivo

ARS Agua residual sintética

CBB Coomassie Brilliant Blue

CLD Conjunto de Letras Diferentes

CMNUCC Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático

DBO Demanda biológica de oxígeno

DQO Demanda química de oxígeno

ONU Organización de las Naciones Unidas

PYMES Pequeñas y medianas empresas

RPM Revoluciones por minuto

TSB Trypticase Soy Broth

Tukey HSD Diferencia Honestamente Significativa de Tukey

Simbología

cm Centímetro

°C Grados centígrados

g Gramos

% Porcentaje

pH Potencial de Hidrógeno

ÍNDICE DE IMÁGENES

Ilustración 1	28
Ilustración 2	29
Ilustración 3	30
Ilustración 4	31
Ilustración 5	32
Ilustración 6	33
Ilustración 7	34
Ilustración 8	35
Ilustración 9	36
Ilustración 10	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	27
---------------	----

CAPÍTULO 1

1. Introducción

1.1 Introducción

El sector textil se encuentra entre las industrias de más rápido crecimiento a escala global; sin embargo, se le reconoce como una de las principales fuentes de contaminación debido a la elevada descarga de aguas residuales que contienen tintes sintéticos y compuestos químicos persistentes (Liu et al., 2024).

En países en desarrollo, como Ecuador, esta cuestión se agrava por la carencia de infraestructura y protocolos adecuados para tratar aguas residuales industriales. Muchas pequeñas y medianas empresas (PYMES) textiles, pese a su relevancia económica y controles de calidad vigentes, no implementan procesos eficientes de depuración, lo que conlleva vertidos directos a cuerpos de agua y suelos, teniendo como resultado contaminación visual y química, afectando la biodiversidad acuática y la salud de las comunidades aledañas (Pattnaik et al., 2018).

Organismos internacionales, como la ONU, advierten que la moda es responsable del 20 % del desperdicio hídrico global y hasta el 10 % de las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero (Naciones Unidas, 2025). Por ello, la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) ha impulsado alianzas con empresas del sector para mejorar la sostenibilidad, optimizando recursos y reduciendo su huella ecológica (UNFCCC, 2025).

En la industria, el proceso de teñido de telas utiliza numerosos tipos de colorantes, incluidos los azoicos, antraquinónicos y trifenilmetanos, caracterizados por estructuras aromáticas complejas que dificultan su degradación natural. Se estima que entre el 20 % y el 25 % del volumen de estos tintes se vierte como efluente sin tratamiento adecuado, lo que

repercute profundamente en la calidad del agua en los ecosistemas receptores y en la biodiversidad que subyace de estos ecosistemas (Khan & Borah, 2024).

El tratamiento de efluentes provenientes de la industria textil puede realizarse a través de procesos físicos, químicos o biológicos, destacando estos últimos por su menor impacto ambiental y su rentabilidad. En particular, los métodos biológicos hacen uso de microorganismos como bacterias y hongos, así como de enzimas especializadas, que permiten la degradación eficiente de colorantes especialmente los azoicos cuando se aplican en condiciones controladas (Desai et al., 2021; Mendes et al., 2011).

En este contexto, la biorremediación aprovecha el potencial de bacterias y hongos para descomponer contaminantes gracias a enzimas como lacasas, azoreductasas y peroxidasas, que han demostrado eficiencia en la degradación de tintes resistentes (Mendes et al., 2011). No obstante, estudios recientes han mostrado que, aunque la decoloración es efectiva, algunos subproductos resultantes pueden ser incluso más tóxicos que los compuestos (Afrin et al., 2021; Zafar et al., 2023). Por lo tanto, es fundamental complementar estos tratamientos con ensayos de fitotoxicidad antes de considerar seguros sus vertidos o reutilización.

1.2 Descripción del problema

En la actualidad, la degradación biológica de tintes textiles con bacterias ha demostrado ser efectiva en la remoción de la coloración del agua, sin embargo, la eficiencia del proceso no garantiza la eliminación de la toxicidad asociada a los compuestos intermedios generados. Si bien la cepa bacteriana C6 ha demostrado capacidad para degradar el tinte Coomassie Brilliant Blue, se desconoce la posible toxicidad de los metabolitos generados. Esto plantea la necesidad de evaluar su impacto mediante bioensayos con plantas utilizando indicadores morfológicos y

fisiológicos para lo cual se selecciona a *Phaseolus vulgaris*, porque esta especie representa un modelo vegetal confiable por su sensibilidad a contaminantes y su importancia agrícola.

Esta incertidumbre plantea la necesidad de evaluar la calidad del efluente tratado mediante bioensayos que permitan determinar su impacto sobre organismos vegetales. Por ello, se plantea un bioensayo donde los parámetros a evaluar son: porcentaje de germinación, la longitud de raíz y tallo, el número de hojas, la biomasa húmeda y seca, y el contenido de clorofila, debido a que, estas variables permiten medir cuantitativamente la fitotoxicidad del efluente en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Por otro lado, se usa la especie vegetal, *Phaseolus vulgaris*, dado que, es de importancia ecológica y alimentaria, además presenta sensibilidad a los contaminantes y posee un ciclo de vida corto, por lo cual, ha sido ampliamente utilizada en diversos estudios de fitotoxicidad y la hace apropiada para este estudio (Maressa Hungria De Lima E Silva et al., 2022).

El problema se enmarca en la necesidad de garantizar que el agua residual tratada con la cepa C6 sea apta para su reutilización o descarga ambiental, evitando riesgos para el ecosistema y posibles afectaciones al suelo o cultivos en caso de aplicación agrícola. La validación de la inocuidad del tratamiento resulta esencial para su posible implementación a nivel industrial y su impacto económico.

1.3 Justificación del problema

Evaluar la fitotoxicidad de efluentes tratados con la cepa C6 es esencial para establecer su inocuidad ecológica, puesto que, sus metabolitos podrían ser dañinos si bien la biorremediación representa una alternativa sustentable frente a los tratamientos convencionales, es imprescindible asegurar que los productos del metabolismo bacteriano no representan una nueva fuente de contaminación.

Este estudio es pertinente porque permite integrar un enfoque biotecnológico con herramientas ecotoxicológicas como los bioensayos, generando evidencia científica sobre los efectos reales del efluente tratado en organismos vegetales. La utilización de *Phaseolus vulgaris* como bioindicador aporta información relevante para determinar la bioseguridad del efluente y establecer criterios para su posible reutilización en sistemas de riego o descargas seguras. Por lo que, este enfoque integral contribuye al desarrollo de procesos de tratamiento más seguros, eficientes y sostenibles.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general:

Evaluar la fitotoxicidad de agua residual textil tratada con la cepa bacteriana C6 mediante la aplicación de diferentes tratamientos en plantas de *Phaseolus vulgaris* para la identificación de sus efectos sobre la germinación y el crecimiento vegetal.

1.4.2 Objetivos específicos:

- Determinar el porcentaje de germinación el porcentaje de germinación de *Phaseolus vulgaris* expuesta a agua residual textil tratada y controles para la identificación de los efectos diferenciales en la fase inicial del desarrollo vegetal.
- Analizar los efectos de los tratamientos a través de la medición de parámetros morfológicos y fisiológicos de modo que se caracterice la fitotoxicidad o tolerancia de *Phaseolus vulgaris* frente a los efluentes textiles tratados.

1.5 Marco teórico

1.5.1 Contaminación por tintes textiles

La industria textil se ha consolidado como una de las principales fuentes de contaminación hídrica a escala global, debido a la descarga de aguas residuales con alta carga de colorantes, productos químicos auxiliares y metales pesados. Se estima que entre el 15 % y el

50 % de los tintes utilizados durante el proceso de teñido no se fijan completamente a las fibras textiles y, por consiguiente, son liberados al ambiente acuático (Liu et al., 2024).

Esta liberación provoca efectos directos sobre los ecosistemas acuáticos. Por ejemplo, la presencia de colorantes reduce la penetración de la luz solar, inhibe la fotosíntesis y altera el equilibrio del oxígeno disuelto, afectando la cadena trófica acuática. Además, muchos colorantes sintéticos, en particular los del grupo azoico, presentan propiedades genotóxicas, mutagénicas y carcinogénicas, lo cual representa un riesgo no solo para la vida acuática, sino también para la salud humana (Goswami et al., 2024; Ramamurthy et al., 2024).

Ante esta problemática, se han desarrollado diversas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales. Entre ellas, destacan los métodos biológicos, por lo que, a diferencia de los tratamientos fisicoquímicos, resultan más sostenibles, generan menos residuos secundarios y muestran una eficacia considerable en la degradación de compuestos tóxicos complejos (Liu et al., 2024). Por lo tanto, el tratamiento biológico se posiciona como una estrategia viable y necesaria para mitigar el impacto ambiental generado por los efluentes de la industria textil.

1.5.2 Biorremediación microbiana

La remoción de colorantes textiles mediante biorremediación bacteriana representa una alternativa ecológica y eficaz frente a métodos físicos y químicos. Las bacterias degradan los tintes utilizando enzimas oxidoreductasas, como azo-reductasas, laccasas o peroxidasas, que descomponen las estructuras cromóforas complejas en metabolitos menos tóxicos (Almamoori et al., 2024; Srinivasan et al., 2022). Por ejemplo, *Bacillus subtilis* degradó más del 95 % de los colorantes disperse red y disperse yellow a una concentración de 50 ppm tras 96 h de incubación. De manera complementaria, cepas como *Lysinibacillus sphaericus* y *Pseudomonas aeruginosa*

han demostrado capacidades similares, reduciendo significativamente la carga orgánica y mostrando alta eficiencia en la decoloración (Srinivasan et al., 2022).

Diversos estudios han demostrado que las cepas bacterianas aisladas de ambientes contaminados, así como aquellas preadaptadas en laboratorio, presentan una elevada capacidad para degradar contaminantes presentes en aguas residuales textiles. Por ejemplo, *Bacillus licheniformis* ZUL012 aislada de suelos afectados logró reducir más del 75 % de la demanda biológica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos, sólidos disueltos y metales pesados en aguas residuales de tintorería en un periodo de 10 días (Ajao & Awe, 2018).

1.5.3 Evaluación de la fitotoxicidad de aguas residuales en plantas

La fitotoxicidad es un indicador clave para evaluar el impacto de aguas residuales sobre organismos vegetales. Se analiza mediante bioensayos que consideran variables como el porcentaje de germinación, la elongación de raíz y tallo, así como la biomasa total. Estos parámetros permiten determinar los efectos adversos causados por contaminantes presentes en efluentes industriales, especialmente en sectores como el textil o agroindustrial.

Por ejemplo, en un estudio demostraron que un efluente textil sin tratar inhibió completamente la germinación de *Phaseolus mungo* y *Pisum sativum* a una concentración del 50 %. Sin embargo, tras ser tratado mediante fitorremediación con *Chara vulgaris*, la germinación alcanzó niveles cercanos al 95 %, evidenciando una reducción significativa de la toxicidad (Mahajan et al., 2019).

De manera complementaria, Gerber et al., (2018) evaluaron la fitotoxicidad de aguas residuales procedentes del parboilizado de arroz sobre *Lactuca sativa* y *Cucumis sativus*, observando una disminución significativa en el índice de germinación y en el crecimiento

radicular, la cual se relacionó con elevadas concentraciones de manganeso y hierro, lo que ratifica la idoneidad de estas especies como bioindicadores.

Por otro lado, estudios recientes han encontrado que *Phaseolus vulgaris* es un modelo efectivo para evaluar efectos fitotóxicos asociados a la contaminación, particularmente por metales pesados presentes en aguas residuales. En este contexto, *P. vulgaris* respondió con alteraciones en parámetros como el contenido de clorofila y las defensas antioxidantes al ser irrigada con efluentes contaminados, lo que confirma su sensibilidad y potencial como especie bioindicadora vegetal (Nowwar et al., 2023).

En consecuencia, estos estudios respaldan el uso de especies vegetales como *Phaseolus vulgaris*, *Lactuca sativa* y *Pisum sativum* para monitorear la toxicidad de efluentes y validar la eficacia de tratamientos previos. Los bioensayos fitotóxicos, por tanto, representan una herramienta económica, reproducible y ambientalmente relevante en el contexto de la evaluación de calidad del agua residual.

CAPÍTULO 2

2 Metodología

Con el objetivo de analizar la fitotoxicidad de efluentes provenientes de la degradación bacteriana de tintes textiles sobre *Phaseolus vulgaris*, se planteó un ensayo experimental de tipo bioensayo. La cepa bacteriana C6 fue inicialmente activada en un medio sólido de agar nutritivo (AN) y posteriormente cultivada en medio líquido Tryptic Soy Broth (TSB) para su multiplicación. Una vez obtenida la biomasa bacteriana, se preparó un medio líquido destinado a su acondicionamiento para el proceso de degradación del tinte.

Finalizada la incubación de las bacterias con el medio, se incorporó el tinte al sistema y se dejó en incubación durante un periodo de 12 días. Transcurrido ese tiempo, se realizó un proceso de centrifugación con el fin de recuperar el sobrenadante, que en este estudio se consideró como el efluente tratado, el cual fue utilizado como insumo para el bioensayo.

El diseño experimental incluyó cuatro tratamientos: (I) CBB al 10 % en agua residual, (II) efluente de CBB tratado con C6 (10 %) en agua destilada, (III) agua destilada y (IV) agua residual sintética al 10% en agua destilada. Cada tratamiento se aplicó en tres repeticiones independientes.

Se emplearon semillas de *Phaseolus vulgaris* como organismo vegetal de prueba, las cuales fueron sembradas en condiciones controladas con cada uno de los tratamientos. Para evaluar el efecto fitotóxico, se midieron indicadores morfológicos y fisiológicos como porcentaje de germinación, longitud de raíz y tallo, número de hojas, biomasa fresca y seca, y contenido de clorofila. Los datos generados fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), complementado con pruebas de comparación de medias como Tukey HSD.

2.1 Aislamiento y activación bacteriana

Se empleó una cepa bacteriana denominada C6, aislada de suelos antárticos, por su potencial para degradar tintes sintéticos. Se cultivó inicialmente en placas con agar nutritivo e incubó durante tres días a 30 °C. Posteriormente, se transfirió a medio líquido Tryptic Soy Broth (TSB, 30 g/L) e incubó a 30 °C durante 48 h en un incubador orbital (Thermo Scientific Solaris 4000, EE. UU.) con agitación constante para favorecer su multiplicación.

2.2 Preparación de aguas residuales sintéticas

Se preparó un agua residual sintética (ARS) con tinte CBB R-250 (grado analítico) disuelto a 1 g/L en agua destilada. El medio se inoculó con el cultivo bacteriano activo y se incubó a 28–30 °C con agitación constante en un biorreactor de 2 L. Se realizaron mediciones de absorción cada 3 días, posterior a su medida se calculó el porcentaje con la siguiente fórmula:

$$\left(\frac{A_0 - A_t}{A_0} \right) \times 100 \quad (2,1)$$

Donde:

A₀: Absorbancia inicial (antes del tratamiento).

A_t: Absorbancia después del tratamiento (después de la degradación).

Se finalizó con el biorreactor cuando alcanzó el porcentaje dentro del rango 50-80% de porcentaje de degradación, luego, se centrifugó a 8500 RPM por 20 min (miniSpin plus), se recolectó el sobrenadante y se almacenó a 4 °C. Finalmente, la solución se diluyó al 10 % (v/v) para su uso en bioensayo vegetal.

2.3 Siembra y condiciones experimentales

Las semillas de *Phaseolus vulgaris* previamente esterilizadas con agua destilada, se sembraron 10 en cada placa Petri, regadas con 3 mL del tratamiento correspondiente, e incubadas

en oscuridad a temperatura ambiente durante 5–7 días. Tras la germinación, se seleccionó una plántula vigorosa por unidad experimental y se trasplantó a vasos plásticos de 1 L de volumen, llenas con tierra agrícola siguiendo protocolos habituales descritos en estudios de germinación y trasplante de leguminosas (Pérez-Portuondo et al., 2021).

2.4 Diseño experimental y tratamientos

El diseño fue completamente al azar, con cuatros tratamientos y tres repeticiones cada uno, totalizando doce unidades experimentales. Los tratamientos incluyen: (1) agua destilada (control), (2) tinte CBB 10 % con agua residual sintética, (3) agua residual sintética al 10% con agua destilada y (4) efluente tratado (ARS + C6 (CBB)) al 10 % con agua destilada. Las plantas crecieron en condiciones semicontroladas (25–30 °C, luz natural) dentro de un invernadero, con riego de 75 mL cada tres días por semana durante 15 días.

2.5 Evaluación de variables fisiológicas

En la etapa de germinación durante 7 días se midieron:

- Porcentaje de germinación (%)
- Longitud de hipocótilo (cm)
- Longitud de raíz (cm)

Se midió semanalmente durante 15 días los siguientes parámetros:

- Longitud de tallo (cm)
- Número de hojas
- Contenido total de clorofila
- Biomasa húmeda y seca (g)

Este enfoque de medición es estándar en estudios de fitotoxicidad con tintes y aguas residuales, donde la germinación y el crecimiento radicular se consideran indicadores tempranos y altamente sensibles a la toxicidad (Kaushik & Inderjit, 2006).

2.6 Análisis estadístico

Los datos se procesaron mediante ANOVA de un solo factor, con cada tratamiento como variable independiente en conjunto con una prueba post hoc de Tukey HSD para valores con $p \leq 0.05$, luego se presentó gráficamente con un diagrama de cajas. Para aquellos datos que no cumplieran con los supuestos como la homogeneidad o no presentaban diferencias significativas se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y representación gráfica. Los análisis se realizaron en R (versión actual) utilizando el paquete "multcomp", validándose de forma complementaria en Microsoft Excel con suplemento de análisis de datos.

CAPÍTULO 3

3 Resultados y discusión

3.1 Obtención del efluente tratado

Durante 13 días de incubación de la cepa C6 en agua residual sintética con Coomassie Brilliant Blue R-250, se registró una notable reducción del tinte, evidenciada por los datos de absorbancia. Al inicio (día 0), la absorbancia era de 0,845, a lo largo del tiempo, se registraron los siguientes valores:

Tabla 1

Mediciones de absorbancia y porcentaje de degradación en la etapa de incubación

Día	Absorbancia	%
0	0,845	0
3	0,658	22.13
6	0,505	40.24
10	0,458	45.8
13	0,233	72.43

Nota. Datos obtenidos cada 3 días en alícuotas de 100ul del biorreactor.

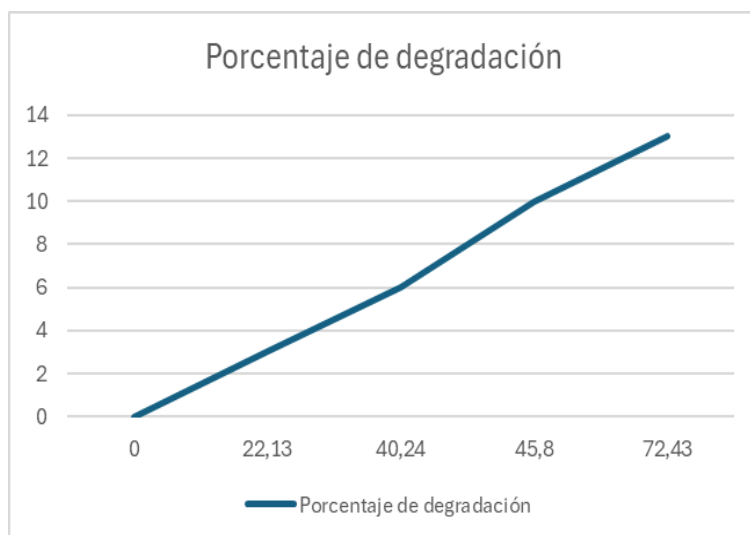
Estos resultados indican una degradación progresiva del tinte, alcanzando un porcentaje máximo del 72,43 % al día 13. La curva de absorbancia versus tiempo como se observa en la *Figura 1* muestra una clara tendencia descendente, lo cual es característico de procesos de biorremediación según modelos cinéticos de primer orden en la literatura (Nadupalli et al., 2015).

Este grado de remoción resulta competitivo y coherente con estudios recientes, donde bacterias han reportado eficiencias de degradación de colorantes similares, como en el caso de

tintes azoicos o antraquinónicos, que oscilan entre el 60 % y el 75 % en condiciones de laboratorio. (Manogaran et al., 2023)

Ilustración 1

Curva de degradación del tinte CBB con cepa bacteriana C6



Nota. El gráfico demuestra el incremento de la degradación al pasar los días.

3.2 Evaluación de la fitotoxicidad mediante variables fisiológicas

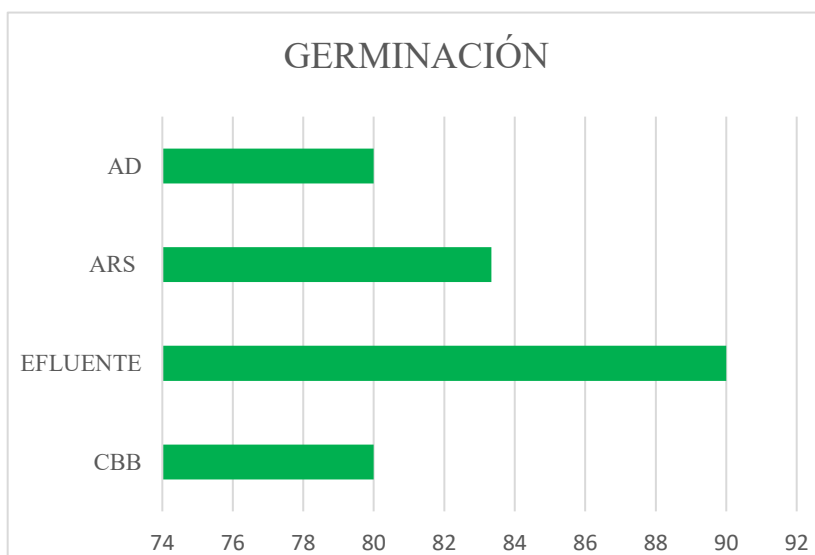
3.2.1 Germinación

Se evaluó la fitotoxicidad en la fase inicial de desarrollo a través del porcentaje de germinación. Tal como se muestra en la Figura 2, el efluente presentó el mayor porcentaje de germinación en comparación con los tres controles. En segundo lugar, el tratamiento con ARS alcanzó valores superiores frente a los demás, mientras que CBB y AD mostraron porcentajes similares y más bajos. Esta tendencia puede explicarse porque tanto AD como CBB carecen de nutrientes que favorezcan el crecimiento inicial, mientras que el ARS aporta elementos esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio, fundamentales para la germinación y el desarrollo temprano de las plántulas (Longobardi et al., 2015). En consecuencia, el efluente logró un mejor desempeño, no solo por la reducción del 72,34 % de la persistencia del tinte, lo que generó un

ambiente menos tóxico. Sino también porque al emplearse ARS como medio base, proporcionó un mayor contenido nutritivo para las semillas en germinación.

Ilustración 2

Porcentaje de germinación de semillas de Phaseolus



Nota. Datos obtenidos el día 5 de germinación a los 4 tratamientos.

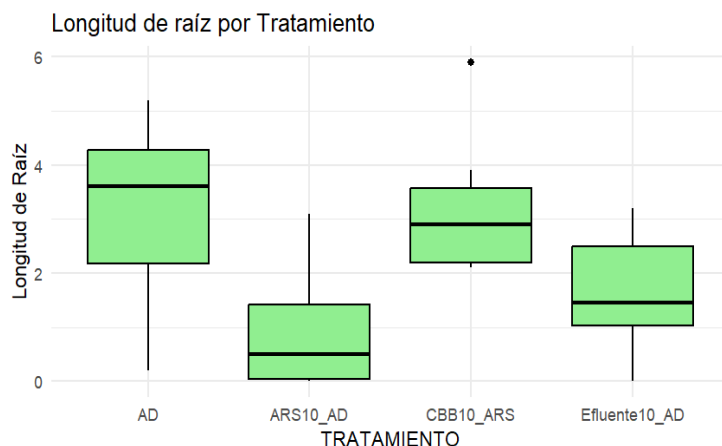
3.2.2 Longitud de raíz

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en la longitud de raíz entre los tratamientos ($F(3,36) = 7.27$, $p = 0.00062$). La prueba de Tukey evidenció que ARS redujo de forma significativa el crecimiento radicular frente a AD y CBB ($p < 0.05$). En cambio, el efluente no presentó diferencias estadísticas con los demás tratamientos, ubicándose en un grupo intermedio (Figura 3).

Estos hallazgos indican que el ARS afectó negativamente el desarrollo de la raíz, mientras que el efluente, tras la degradación del tinte, mostró un efecto comparable al control con AD, lo que sugiere su viabilidad para reutilización sin comprometer el crecimiento inicial.

Ilustración 3

Diagrama de la variable longitud de raíz en los 4 tratamientos evaluados



Nota. Se clasificaron los grupos donde AD y CBB conforman el grupo “a”, ARS el grupo “b”, y efluente se ubica en un grupo intermedio (“ab”).

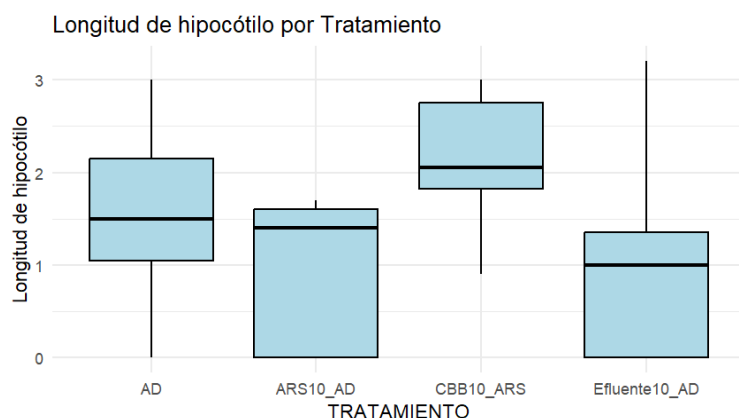
3.2.3 Longitud de hipocótilo

El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias significativas en la longitud del hipocótilo entre los tratamientos ($F_{(3,36)} = 4.18$, $p = 0.0122$). La prueba post-hoc de Tukey mostró que el tratamiento con CBB promovió una elongación significativa en comparación con ARS ($p = 0.0204$), mientras que el efluente presentó diferencias significativas frente a CBB ($p = 0.0250$) pero no frente a ARS ni al control con agua destilada (AD), ubicándose en un grupo intermedio (Figura 4). Estos resultados evidencian que ARS limitó el crecimiento del hipocótilo, mientras que CBB y AD favorecieron mayores longitudes. Por su parte, el efluente, al mostrar un comportamiento similar al AD, sugiere que el proceso de remediación redujo la toxicidad del tinte y permitió un desarrollo comparable al control. La representación gráfica refleja dos tendencias claras: tratamientos con mayor elongación (CBB y AD) y tratamientos con menores

longitudes (ARS y sobrenadante), consolidando la relación entre la toxicidad del tinte y el crecimiento del hipocótilo.

Ilustración 4

Diagrama de caja de las longitudes medidas en las semillas por tratamiento



Nota. El gráfico demuestra visualmente la tendencia de agrupación de las medias obtenidas por tratamiento.

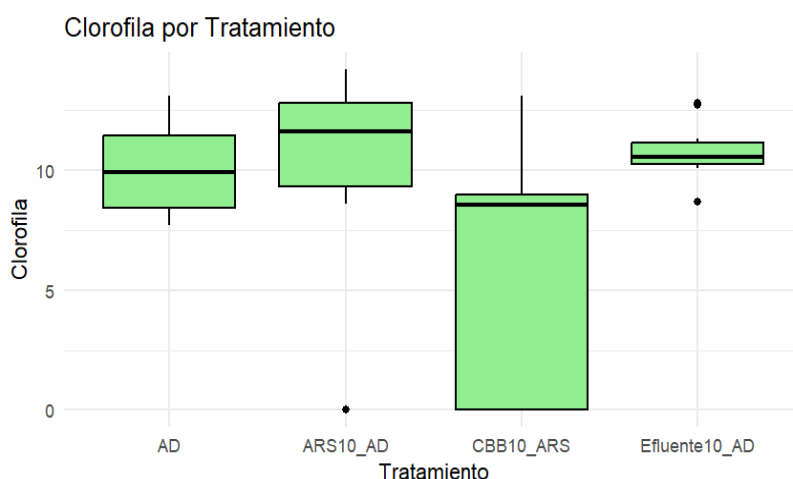
3.2.4 Clorofila

En la variable clorofila, el análisis de varianza (ANOVA) evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($F(3,44) = 4.84$, $p = 0.00539$). La prueba post-hoc de Tukey indicó que el tratamiento con CBB presentó valores significativamente menores de clorofila en comparación con ARS, Efluente y agua destilada (AD) ($p < 0.05$). Por su parte, el efluente no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto a ARS ni al control con AD (Figura 5). La clasificación por grupos (CLD) posicionó a CBB en un grupo distinto (“b”), mientras que los otros tratamientos se agruparon (“a”), lo que evidencia que el tinte CBB afectó negativamente el contenido de clorofila. Asimismo, se observó que CBB presentó mayor variabilidad en los datos y los valores más bajos de clorofila, mientras que el efluente alcanzó

niveles similares al AD, sugiriendo que la remediación del tinte disminuyó su toxicidad y permitió la recuperación del contenido clorofílico en las plantas tratadas.

Ilustración 5

Diagrama de cajas con los datos agrupados por tratamiento



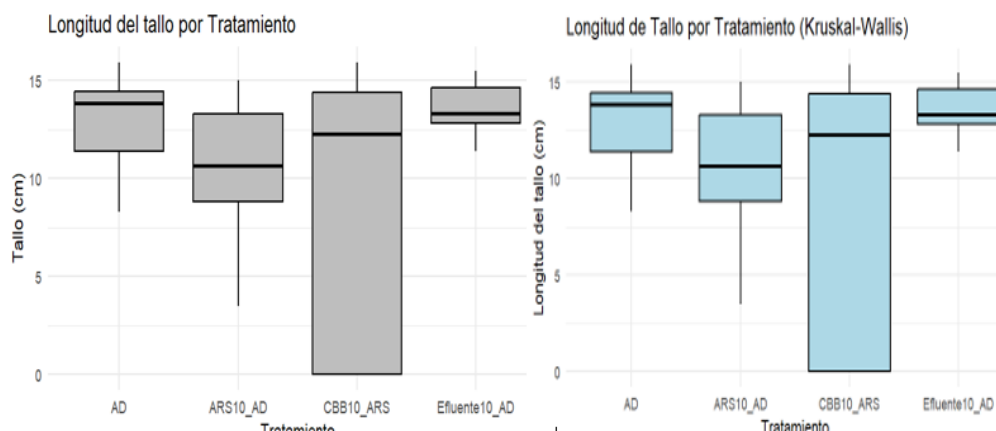
Nota. Se muestra que en esta variable el efluente tuvo mayor similitud al control con agua destilada que los otros tratamientos.

3.2.5 Longitud de tallo

Para la variable tallo, se realizó el análisis con ANOVA se obtuvo un ($p\text{-value} = 0.0454$), luego se realizó la prueba Tukey ($p < 0.05$), pero no se encontraron diferencias indicando que todos los tratamientos seguían una misma tendencia de crecimiento, por lo cual, se realizó la prueba de Kruskal Wallis que de igual forma no se mostraron diferencias en los datos con $p\text{-value} = 0.166$ y como se observa en la figura 6, ambas pruebas mostraron gráficamente que los tratamientos no tienen diferencias estadísticamente significativas por lo cual, los 4 tratamientos muestran similar crecimiento para la variable tallo.

Ilustración 6

*Comparación estadística de la longitud del tallo en *P. vulgaris* bajo los tratamientos evaluados mediante comparación de análisis de ANOVA y Kruskal Wallis*



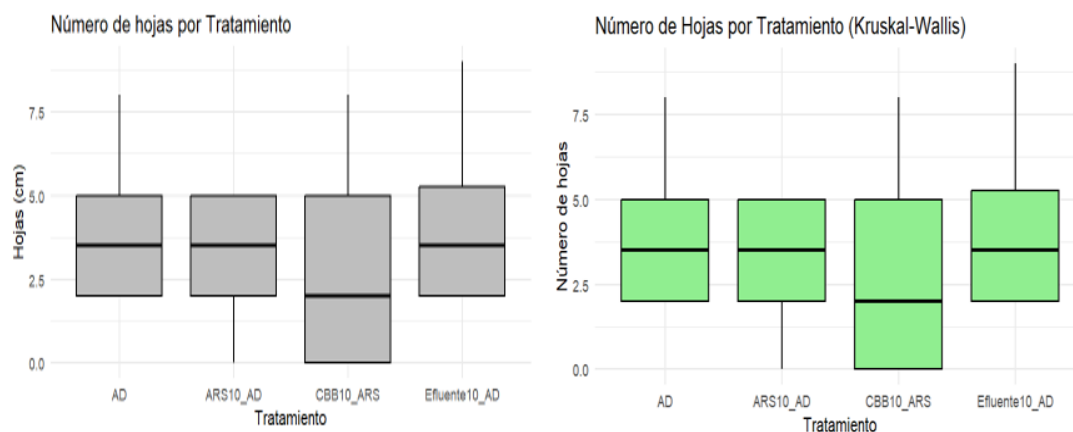
Nota. Se reporta que después de haber realizado ambos análisis se obtuvieron los mismos resultados gráficos.

3.2.6 Número de hojas

En la variable correspondiente al tallo, el análisis de varianza (ANOVA) arrojó un valor de significancia de $p = 0.376$, es decir que no había diferencia relevante en los datos, aun así, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$) que de igual forma no se identificaron diferencias significativas, lo que indicó que los tratamientos mantuvieron una tendencia de crecimiento similar. Con el fin de corroborar estos resultados, se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, la cual confirmó la ausencia de diferencias entre los grupos con $p\text{-value} = 0.3287$. Tal como se aprecia en la Figura 7, ambos enfoques estadísticos coinciden en mostrar que los cuatro tratamientos no presentan diferencias significativas, evidenciando un crecimiento comparable en la variable número de hojas.

Ilustración 7

Gráfico de comparación de análisis de ANOVA y Kruskal Wallis



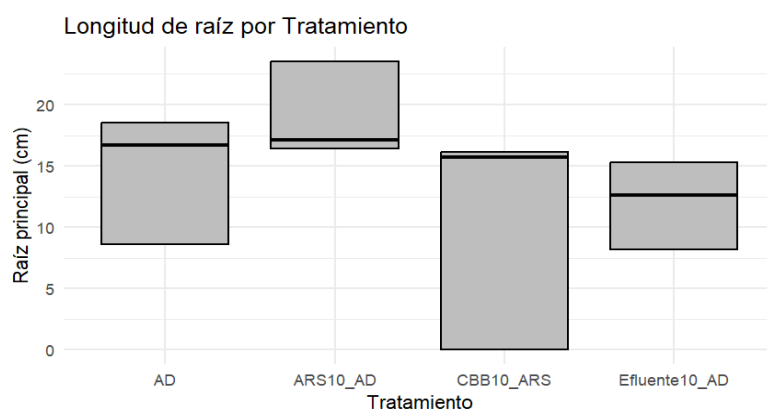
Nota. Se reporta que después de haber realizado ambos análisis se obtuvieron los mismos resultados gráficos.

3.2.7 Longitud de raíz principal de las plántulas

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en la longitud de raíz entre tratamientos ($p=0.001$). La prueba de Tukey evidenció que CBB y Efluente redujeron de manera significativa el crecimiento radicular en comparación con ARS ($p<0.001$; $p=0.008$) mientras que no se observaron diferencias entre CBB y Efluente ($p=0.898$). La clasificación de grupos situó a ARS en el grupo “a”, a CBB y Efluente en el grupo “b” y a AD en un grupo intermedio (“ab”). Estos resultados indican que, aunque el tratamiento con la cepa C6 logró una degradación significativa del tinte, el efluente aún conserva efectos residuales sobre el crecimiento radicular, semejantes a los observados con el CBB sin tratar. Estos resultados se pueden observar de mejor forma en la figura 8, ya que observamos las tendencias de dispersión de los 4 tratamientos, tal como se observa en la Figura 8.

Ilustración 8

Diagrama de cajas con los datos agrupados por tratamiento



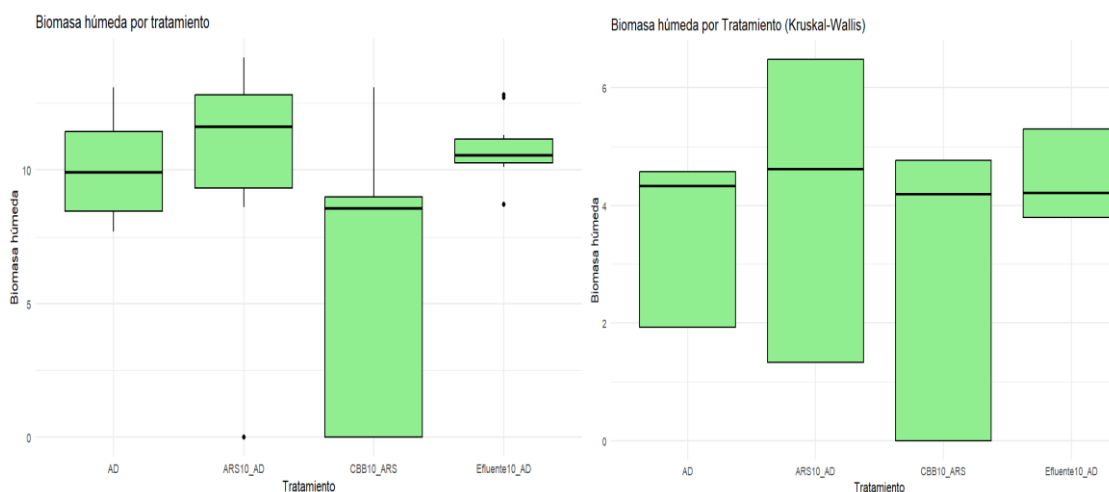
Nota. Se observa la diferencia en dispersión y tendencia de los tratamientos.

3.2.8 Biomasa húmeda

El ANOVA para biomasa húmeda no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(3,44)} = 1.64$, $p = 0.193$), y la prueba post-hoc de Tukey tampoco identificó comparaciones significativas entre ellos. La clasificación por grupos (CLD) ubicó a todos los tratamientos en la misma categoría (“a”), indicando que ninguno afectó de manera relevante la acumulación de agua en los tejidos. La prueba de Kruskal-Wallis corroboró esta tendencia ($\chi^2 = 3.18$, $df = 3$, $p = 0.3651$), mostrando resultados consistentes con el ANOVA. La figura 9 refleja ligeras diferencias visuales, con el efluente y el control con agua destilada, pero sin significancia estadística, lo que sugiere que los tratamientos no influyeron significativamente sobre la biomasa húmeda.

Ilustración 9

Diagramas de cajas pruebas ANOVA y Kruskal Wallis



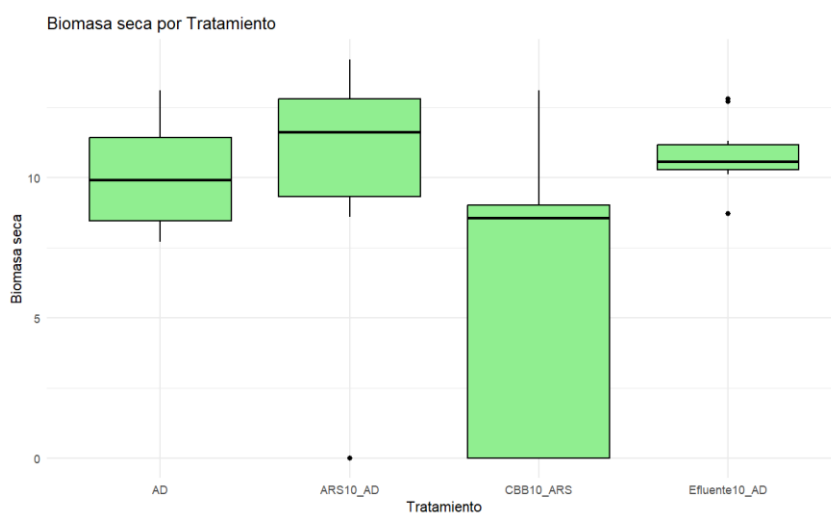
Nota. Ambos gráficos ilustran que no existió diferencias significativas entre tratamientos.

3.2.9 Biomasa seca

Para la biomasa seca, el ANOVA indicó diferencias significativas entre los tratamientos ($F(3,44) = 3.39$, $p = 0.0262$). La prueba post-hoc de Tukey reveló que el tratamiento con CBB presentó valores significativamente menores que el efluente ($p = 0.0385$), mientras que las demás comparaciones no alcanzaron significancia estadística. La clasificación por grupos (CLD) mostró que CBB se ubicó en un grupo distinto (“a”), efluente en otro (“b”), y AD y ARS compartieron un grupo intermedio (“ab”), lo que evidencia un efecto moderado del tinte sobre la acumulación de materia seca. El diagrama de caja mostro que la biomasa seca fue menor en plantas tratadas con CBB, mientras que el efluente favoreció valores superiores, acercándose al comportamiento del control. Esto sugiere que, aunque los tintes pueden afectar la acumulación de biomasa seca, la remediación contenida en el efluente permitió una recuperación parcial de la materia seca (Figura 10).

Ilustración 10

Diagrama de cajas con los datos agrupados por tratamiento



Nota. Se observa que a pesar de existir puntos dispersos esto no es estadísticamente significativo.

CAPÍTULO 4

4 Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

Tras la aplicación de las fases de biorremediación, germinación y desarrollo en *Phaseolus vulgaris*, se obtuvieron los siguientes hallazgos que permiten valorar el potencial del efluente tratado con la cepa C6 frente a los controles establecidos:

- La incubación del agua residual sintética con la cepa C6 permitió alcanzar un 72,43 % de degradación del CBB al día 13. Este resultado se relaciona con la capacidad de la cepa para metabolizar compuestos recalcitrantes, reduciendo la toxicidad del efluente y generando condiciones más favorables para el uso posterior en bioensayos, en concordancia con estudios que reportan eficiencias similares en la remoción de colorantes por bacterias ambientales ((Manogaran et al., 2023; Nadupalli et al., 2015).
- El efluente mostró el mayor porcentaje de germinación en comparación con AD, ARS y CBB. Esto se explica porque la degradación del tinte disminuyó la toxicidad inicial y, al conservar nutrientes presentes en el medio ARS (N, P, K), se favoreció el desarrollo temprano de las semillas. Por el contrario, AD y CBB tuvieron porcentajes bajos al carecer de nutrientes, lo que limitó el inicio del crecimiento.
- Los análisis estadísticos evidenciaron que el ARS afectó negativamente la longitud de la raíz, mientras que el efluente se ubicó en un grupo intermedio, con valores similares al control AD, lo que sugiere que la degradación parcial del CBB atenuó los efectos negativos del agua residual. En el hipocótilo, el CBB promovió una elongación mayor respecto a ARS, mientras que el efluente mostró un comportamiento comparable al AD. En cuanto a los parámetros fisiológicos, el contenido de clorofila fue significativamente menor en plantas tratadas con CBB, mientras que el efluente alcanzó niveles estadísticamente

semejantes a AD y ARS, evidenciando una reducción de la toxicidad. Para tallo y número de hojas no se detectaron diferencias significativas, lo que indica una menor sensibilidad de estas variables al estrés generado. Finalmente, en biomasa seca, el efluente presentó valores superiores al CBB y cercanos al control, lo que indica una recuperación parcial en la acumulación de materia seca.

En síntesis, los resultados evidencian que el tratamiento con la cepa C6 permitió disminuir la toxicidad del tinte CBB y generar un efluente comparable al control con agua destilada en parámetros clave como germinación, clorofila y biomasa. No obstante, algunos efectos residuales en la raíz principal reflejan que la biorremediación fue significativa pero no total, lo que plantea la necesidad de optimizar condiciones de incubación o complementar el tratamiento con estrategias adicionales.

4.2 Recomendaciones

Tras culminar la investigación y considerando tanto los resultados obtenidos como las limitaciones encontradas en el desarrollo experimental, se plantean las siguientes recomendaciones orientadas a optimizar y ampliar el alcance del estudio en futuras investigaciones:

- Ajustar parámetros de incubación (pH, temperatura, concentración de inóculo y tiempo de exposición) para incrementar la eficiencia de degradación del tinte y reducir los efectos residuales observados en la raíz principal de las plántulas.
- Continuar con estudios de mayor volumen, ya que este trabajo logró escalar la producción de enzimas degradativas en un biorreactor de 600 mL, lo cual representa un avance frente a estudios que emplean solo matraces de menor capacidad. Futuras investigaciones deberían evaluar volúmenes superiores y condiciones de operación semicontinuas o continuas, con el fin de aproximarse a aplicaciones industriales.

- Profundizar en la identificación y cuantificación de las enzimas producidas por bacterias durante la degradación, a fin de comprender los mecanismos específicos de biotransformación del tinte y optimizar el proceso mediante la inducción o co-metabolismo.
- Analizar los efectos del efluente en periodos de crecimiento más prolongados en *Phaseolus vulgaris* y en otras especies vegetales, para validar la inocuidad y el potencial de reúso agrícola bajo condiciones más cercanas a la realidad productiva.
- Realizar estudios comparativos entre la biorremediación bacteriana y métodos fisicoquímicos tradicionales, considerando no solo la eficiencia de remoción de colorantes sino también los costos operativos, la generación de residuos secundarios y la sostenibilidad ambiental.
- Extender el estudio al tratamiento de aguas residuales textiles reales, ya que en este trabajo se utilizó un medio sintético. Ello permitirá evaluar la robustez del proceso frente a la complejidad y variabilidad de efluentes industriales.

Referencias

- Afrin, S., Shuvo, H. R., Sultana, B., Islam, F., Rus'd, A. A., Begum, S., & Hossain, M. N. (2021). The degradation of textile industry dyes using the effective bacterial consortium. *Heliyon*, 7(10), e08102. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08102>
- Ajao, A., & Awe, S. (2018). Bioremediation of wastewaters from local textile industries. *Natural and Applied Sciences Journal*, 1(2), 16-25. <https://doi.org/10.38061/idunas.498825>
- Almamoori, A. M., Swefee, D. Z. A., & Alzuhery, M. M. (2024). Biodegradation of Two Textile Dyes by *Bacillus Subtilis*. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 21(3), 71. <https://doi.org/10.3233/AJW240036>
- Desai, C., Jain, K. R., Boopathy, R., Van Hullebusch, E. D., & Madamwar, D. (2021). Editorial: Eco-Sustainable Bioremediation of Textile Dye Wastewaters: Innovative Microbial Treatment Technologies and Mechanistic Insights of Textile Dye Biodegradation. *Frontiers in Microbiology*, 12, 707083. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.707083>
- Gerber, M. D., Arsand, D. R., Lucia, T., & Correa, É. K. (2018). Phytotoxicity Evaluation of Wastewater from Rice Parboiling. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101(5), 678-683. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2455-9>
- Goswami, D., Mukherjee, J., Mondal, C., & Bhunia, B. (2024). Bioremediation of azo dye: A review on strategies, toxicity assessment, mechanisms, bottlenecks and prospects. *Science of The Total Environment*, 954, 176426. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176426>
- Kaushik, S. & Inderjit. (2006). Phytotoxicity of selected herbicides to mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.). *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2), 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.09.010>

- Khan, S., & Borah, D. (2024). Microbial cell factories in the degradation of azo-dye and their limiting factors: An insight. *Cleaner Water*, 2, 100034.
<https://doi.org/10.1016/j.clwat.2024.100034>
- Liu, Y., Chen, J., Duan, D., Zhang, Z., Liu, C., Cai, W., & Zhao, Z. (2024). Environmental Impacts and Biological Technologies Toward Sustainable Treatment of Textile Dyeing Wastewater: A Review. *Sustainability*, 16(24), 10867.
<https://doi.org/10.3390/su162410867>
- Longobardi, F., Sacco, D., Casiello, G., Ventrella, A., & Sacco, A. (2015). Characterization of the Geographical and Varietal Origin of Wheat and Bread by Means of Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) Methods and Chemometrics: A Review. *Agricultural Sciences*, 06(01), 126-136.
<https://doi.org/10.4236/as.2015.61010>
- Mahajan, P., Kaushal, J., Upmanyu, A., & Bhatti, J. (2019). Assessment of Phytoremediation Potential of *Chara vulgaris* to Treat Toxic Pollutants of Textile Effluent. *Journal of Toxicology*, 2019, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2019/8351272>
- Manogaran, M., Halmi, M. I. E., Othman, A. R., Yasid, N. A., Gunasekaran, B., & Shukor, M. Y. A. (2023). Decolorization of Reactive Red 120 by a novel bacterial consortium: Kinetics and heavy metal inhibition study. *AIMS Environmental Science*, 10(3), 424-445.
<https://doi.org/10.3934/environsci.2023024>
- Maressa Hungria De Lima E Silva, I., Almeida Rodrigues, A., De Fátima Sales, J., Almeida Rodrigues, D., Carvalho Vasconcelos Filho, S., Lino Rodrigues, C., Ferreira Batista, P., Carlos Costa, A., Domingos, M., Müller, C., & Alves Da Silva, A. (2022). Fluoride effect

- indicators in *Phaseolus vulgaris* seeds and seedlings. *PeerJ*, 10, e13434.
<https://doi.org/10.7717/peerj.13434>
- Mendes, S., Farinha, A., Ramos, C. G., Leitão, J. H., Viegas, C. A., & Martins, L. O. (2011). Synergistic action of azoreductase and laccase leads to maximal decolourization and detoxification of model dye-containing wastewaters. *Bioresource Technology*, 102(21), 9852-9859. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.108>
- Nadupalli, S., Dasireddy, V. D. B. C., Koorbanally, N. A., & Jonnalagadda, S. B. (2015). Kinetics and mechanism of the oxidation of Coomassie Brilliant Blue-R dye by hypochlorite and role of acid therein. *South African Journal of Chemistry*, 68. <https://doi.org/10.17159/0379-4350/2015/v68a13>
- Nowwar, A. I., Farghal, I. I., Ismail, M. A., & Amin, M. A. (2023). Impact of Irrigation with Wastewater on Accumulation of Heavy Metals in *Phaseolus vulgaris* L. and Its Remediation. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(1), 761-777. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01080-8>
- ONU. (2025, 5 marzo). *La industria de la moda contamina y debe pasar a la acción climática, alerta la ONU*. Noticias ONU. <https://news.un.org/es/story/2025/03/1537631>
- Pattnaik, P., Dangayach, G. S., & Bhardwaj, A. K. (2018). A review on the sustainability of textile industries wastewater with and without treatment methodologies. *Reviews on Environmental Health*, 33(2), 163-203. <https://doi.org/10.1515/reveh-2018-0013>
- Ramamurthy, K., Priya, P. S., Murugan, R., & Arockiaraj, J. (2024). Hues of risk: Investigating genotoxicity and environmental impacts of azo textile dyes. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(23), 33190-33211. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33444-1>

- Srinivasan, S., Bankole, P. O., & Sadasivam, S. K. (2022). Biodecolorization and degradation of textile azo dyes using *Lysinibacillus sphaericus* MTCC 9523. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 990855. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.990855>
- Szigethy-Ambrus, N. (2025, 20 febrero). The state of the global textile industry: boom in China, crisis in Turkey. OecoGlobus. Oeconomus Gazdaságkutató Alapítvány. <https://www.oeconomus.hu/en/oecoglobus/the-state-of-the-global-textile-industry-boom-in-china-crisis-in-turkey/>
- UN Climate Change. (2018, 22 enero). Fashion industry, UN pursue climate action for sustainable development. UNFCCC. <https://unfccc.int/news/fashion-industry-un-pursue-climate-action-for-sustainable-development>
- Zafar, H., Javed, R., & Zia, M. (2023). Nanotoxicity assessment in plants: An updated overview. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(41), 93323-93344. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-29150-z>