

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMIADORA DE LAS
ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* W. T. Aiton (Berro)
E *Hydrocotyle ranunculoides* L. f. (Matecillo) EN RELACIÓN A LA
CONTAMINACIÓN CON MERCURIO A DIFERENTES
CONCENTRACIONES**

TESIS PRESENTADA POR:

Br. JACKELINE ZÚMIKO HUAMÁN TITO

Br. ABIGAIL RUMAJA SANTOS

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

ASESORA:

Mgt. ANAHÍ KARINA CARDONA RIVERO

CO-ASESORES:

Ing. MARIO CUMPA CAYURI

Mgt. JANET GONZÁLEZ BELLIDO

TESIS FINANCIADA POR LA UNSAAC

CUSCO-PERÚ

2017

DEDICATORIA

Dedico esta tesis en primer lugar a Dios, por darme la vida y esta oportunidad de poder crecer personal y profesionalmente.

A mis padres Santos Huamán Ayte y Antonia Tito Chura por su paciencia, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia.

A mi abuelito Zenón Huamán Polo, hermanito Stephen Huamán Tito por ser mi fortaleza y motivación.

A Illian, mis tíos Jaime, Mamert y Yolanda por estar siempre conmigo y apoyarme.

Jackeline Zúmiko Huamán Tito

Al creador de todas las cosas Dios, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado.

De igual forma, dedico esta tesis a mis padres Mario, Gertrudis que han sabido formarme con buenos sentimientos y valores lo cual me ha servido para salir adelante en los momentos difíciles.

A mis hermanos: Miriam, Percy, Sheyla, Alberth y Marc porque me han brindado su apoyo incondicional, comprensión, confianza y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

Abigail Rumaja Santos

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, por habernos brindado los conocimientos necesarios y la oportunidad de formarnos como profesionales, impartiéndonos sus enseñanzas para llevar a cabo nuestros objetivos personales y académicos.
- ❖ A los docentes del departamento de Farmacognosia y Productos Naturales, especialmente a la Mgt. Ingrid Vera Ferchau quien nos brindó las facilidades para poder realizar el estudio botánico de las especies estudiadas en esta tesis.
- ❖ A nuestra asesora Mgt. Anahí Cardona Rivero, por los consejos y asesoramiento para seguir adelante con esta tesis.
- ❖ A nuestros co-asesores Ing. Mario Cumpa Cayuri y Mgt. Janet González Bellido por su apoyo y asesoramiento en la realización de pruebas experimentales en los laboratorios.
- ❖ A los miembros del jurado: Mgt. Ingrid Vera Ferchau, MCs. Lelia Rodríguez Torres, Q.F Carlos Moreyra Pachas y replicante Mgt. Magaly Villena Tejada por sus observaciones y aportes que contribuyeron en la mejorara de nuestro trabajo de investigación.
- ❖ A todas las personas que estuvieron con nosotras apoyándonos durante el análisis de nuestras muestras en el laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales: Blgo. José Luis Sierra Herrera.

GRACIAS

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Abreviaturas utilizadas.....	4

CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1 Planteamiento del problema.....	5
1.2 Formulación del problema.....	6
1.3 Objetivos.....	6
1.3.1 Objetivo general.....	6
1.3.2 Objetivos específicos.....	6
1.4 Limitaciones.....	7
1.5 Justificación.....	7
1.6 Hipótesis.....	8

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 Antecedentes.....	9
2.1.1 Antecedentes internacionales.....	9
2.1.2 Antecedentes nacionales.....	11
2.1.3 Antecedentes locales.....	12
2.2 Bases teórico-científicas.....	13
2.2.1 Fitorremediación.....	13
2.2.2 Bioacumulación.....	16
2.2.3 Macrófitas acuáticas.....	20
2.2.4 Descripción de las especies vegetales.....	21
2.2.5 Metales pesados.....	24
2.2.6 El agua.....	33
2.2.7 La hidroponía.....	35
2.2.8 Espectrofotometría de absorción atómica.....	31

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales.....	34
3.1.1 Materiales biológicos.....	34
3.1.2 Materiales de laboratorio:.....	34
3.1.3 Reactivos.....	34
3.1.4 Equipos e instrumentos.....	35

3.1.5 Materiales de campo	35
3.1.6 Materiales de escritorio	35
3.1.7 Software para el trabajo	36
3.1.8 Otros	36
3.2 Diseño metodológico	37
3.2.1 Nivel y tipo de investigación	37
3.2.2 Diseño de la investigación	37
3.2.3 Variables: Definición operacional y conceptual.....	39
3.2.4 Operacionalización de variables.....	45
3.2.5 Criterios de inclusión y exclusión.....	47
3.3 Procedimiento del estudio y métodos	47
3.3.1 Fase de recolección e identificación de las especies vegetales.....	47
3.3.2 Fase de adaptación y nutrición (Cultivo hidropónico)	47
3.3.3 Fase de contaminación del agua con mercurio	48
3.3.4 Procedimiento para determinar la concentración de mercurio en raíz, parte aérea y agua	51
3.3.5 Cálculo para hallar el factor de bioacumulación (BAF) y factor de traslocación (FT) ..	55
3.3.6 Procedimiento general para la caracterización de la morfología.....	56
3.3.7 Procedimiento para el análisis proximal	59
3.3.8 Técnicas para procesamiento y análisis de la información	65

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados de la determinación de concentración final de mercurio en raíz y parte aérea ..	66
4.2 Resultados de la determinación de la concentración final de mercurio en agua.....	72
4.3 Resultados de la determinación del factor de bioacumulación y factor de traslocación.....	75
4.4 Resultados de la caracterización de la morfología interna raíz y parte aérea.....	76
4.4.1 Resultados antes de la contaminación con mercurio.....	72
4.4.2 Resultados de la caracterización de la morfología interna después de la contaminación con mercurio	80
4.4.3 Resultados de la evaluación de la presencia de clorosis y necrosis.....	89
4.4.4 Resultados de la evaluación de la morfometría	91
4.4.5 Evaluación del índice y densidad estomática	93
4.5 Resultados de la evaluación del análisis proximal de las especies vegetales	95
4.5.1 Resultados del análisis proximal antes de la contaminación con mercurio	95
4.5.2 Resultados del análisis proximal después de la contaminación con mercurio	96
Conclusiones	100
Sugerencias	102
Referencias bibliográficas.....	103
Anexos	113

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes	14
Tabla N° 2: Acumulación de metales pesados en las plantas acuáticas	17
Tabla N° 3: Límites Máximos Permisibles (LMP).	25
Tabla N° 4: Propiedades fisicoquímicas del mercurio	26
Tabla N° 5: Ingesta diaria promedio de mercurio	32
Tabla N° 6: Efectos de los distintos tipos de contaminación	34
Tabla N° 7: Variables.....	45
Tabla N° 8: Composición química de la solución hidropónica A y B.....	48
Tabla N° 9: Posicionamiento de las especies vegetales con el contaminante mercurio a diferentes concentraciones.....	50
Tabla N° 10: Factores de conversión para proteínas	60
Tabla N° 11: Concentración final de mercurio en las especies vegetales	66
Tabla N° 12: ANOVA DE <i>Nasturtium officinale</i> (Berro)	66
Tabla N° 13: Concentración (ppm) Hg ²⁺ raíz de <i>Nasturtium officinale</i>	67
Tabla N° 14: Concentración (ppm) Hg ²⁺ parte aérea de <i>Nasturtium officinale</i>	67
Tabla N° 15: ANOVA DE <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)	69
Tabla N° 16: Concentración (ppm) Hg ²⁺ raíz de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	69
Tabla N° 17: Concentración (ppm) Hg ²⁺ parte aérea de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)	70
Tabla N° 18: Concentración de mercurio en agua	72
Tabla N° 19: Concentración de Hg ²⁺ en agua de <i>Nasturtium officinale</i>	72
Tabla N° 20: Concentración de Hg ²⁺ en agua de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)	73
Tabla N° 21: Factor de bioacumulación y factor de traslocación.....	75
Tabla N° 22: Cortes transversales de <i>Nasturtium officinale</i> para diferentes concentraciones de mercurio.....	80
Tabla N° 23: Cortes transversales de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> para diferentes concentraciones de mercurio.....	84
Tabla N° 24: Clorosis y necrosis de las especies vegetales	89
Tabla N° 25: Evaluación de la morfometría de las especies vegetales <i>Nasturtium officinale</i> e <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> antes y después de la contaminación con mercurio.....	91
Tabla N° 26: Determinación del índice y densidad estomática de <i>Nasturtium officinale</i> e <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	93
Tabla N° 27: Análisis proximal de las especies vegetales.....	95
Tabla N° 28: Análisis proximal de <i>Nasturtium officinale</i> después de la contaminación con mercurio.....	96
Tabla N° 29: Análisis proximal de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> después de la contaminación con mercurio.....	97

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma N° 1: Fases para evaluación de la capacidad fitorremediadora.....	51
Flujograma N° 2: Procedimiento de la determinación de mercurio.....	54
Flujograma N° 3: Procedimiento para la caracterización de la morfología externa e interna.....	58
Flujograma N° 4: Análisis proximal de las especies vegetales.....	64

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración N° 1: Tipos de fitorremediación.....	14
Ilustración N° 2: Plantas acuáticas.....	20
Ilustración N° 3: Ciclo del Mercurio	27
Ilustración N° 4: Relaciones hídricas, fotosíntesis y regulación del crecimiento.....	30
Ilustración N°5: Efectos tóxicos primarios de metales pesados.	32
Ilustración N° 6: Fuentes puntuales y difusas de contaminación del agua	35
Ilustración N° 7: Esquema hidropónico	30
Ilustración N° 8: Diagrama del proceso de atomización en AAS	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Relación de la concentración de mercurio con la capacidad de absorción de la raíz de <i>Nasturtium officinale</i>	68
Gráfico N° 2: Relación de la concentración de mercurio con la capacidad de absorción de la parte aérea de <i>Nasturtium officinale</i>	68
Gráfico N° 3: Relación de la concentración de mercurio con la capacidad de absorción de la raíz de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	70
Gráfico N° 4: Relación de la concentración de mercurio con la capacidad de absorción de la parte aérea de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	71
Gráfico N° 5: Relación de la concentración de mercurio inicial y final en el agua de <i>Nasturtium officinale</i>	73
Gráfico N° 6: Relación de la concentración de mercurio inicial y final en el agua de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	74
Gráfico N° 7: Comparación entre índice estomático adaxial y abaxial de <i>Nasturtium officinale</i> ..	93
Gráfico N° 8: Comparación entre índice estomático adaxial y abaxial de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	94

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía N° 1: Corte transversal en hoja de <i>Nasturtium Officinale</i>	76
Fotografía N° 2: Corte transversal en tallo de <i>Nasturtium Officinale</i>	77
Fotografía N° 3: Corte transversal en raíz de <i>Nasturtium Officinale</i>	77
Fotografía N° 4: Corte transversal en hoja de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	78
Fotografía N° 5: Corte transversal en tallo de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	78
Fotografía N° 6: Corte transversal en raíz de <i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	79

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides* en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones, tomando como base para dichos análisis la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS).

Para lo cual se realizó el estudio en tres etapas, la primera fue la recolección de las especies vegetales del Riachuelo de K'ayra, San Jerónimo-Cusco y el cultivo en un sistema hidropónico, la segunda la contaminación con mercurio (II) a diferentes concentraciones y finalmente la evaluación de la capacidad fitorremediadora.

La contaminación con mercurio a las concentraciones de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 y 5.0 ppm de mercurio duró 15 días, durante este periodo se evaluó la presencia de clorosis, necrosis foliar y al finalizar se realizó la medida de la longitud de raíz, tallo y hojas; encontrándose que a partir de la concentración 1.0 ppm hay presencia de clorosis y a la concentración 5.0 ppm necrosis; en cuanto a la longitud de raíz, tallo y hojas se observó una disminución proporcional al incremento de la concentración de mercurio. También se realizó un análisis proximal, donde se observó una disminución significativa del porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasas y fibra e incremento del porcentaje de carbohidratos para ambas especies vegetales.

En el estudio de la morfología interna se encontró que el mercurio causa alteraciones a nivel de pared celular, organización de tejidos y sistema vascular, tanto en raíz, tallo y hoja. Finalmente al evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales se concluyó que esta dependerá de la especie vegetal y la concentración de mercurio que se encuentra en el agua, por lo tanto la especie vegetal con mayor capacidad fitorremediadora fue *N. officinale*, con un factor de bioacumulación mayor a 1000 mg/L hasta la concentración de 2.0 ppm de mercurio, mientras que *H. ranunculoides*, obtuvo un factor de bioacumulación mayor a 1000 mg/L hasta la concentración 1.0 ppm de mercurio.

Palabras claves: Fitorremediación; mercurio; factor de bioacumulación (BAF); factor de traslocación (FT); espectrofotometría de absorción atómica.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the phytoremediative capacity of the plant species *Nasturtium officinale* and *Hydrocotyle ranunculoides* in relation to mercury contamination at different concentrations, based on the Atomic Absorption Spectrophotometry (ASA) technique.

The study was carried out in three stages, the first one was the collection of the plant species of the Riachuelo K'ayra, San Jerónimo-Cusco and the cultivation in a hydroponic system, the second the contamination with mercury (II) to different concentrations and finally the evaluation of phytoremediation capacity.

The mercury contamination at concentrations of 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 ppm of mercury lasted 15 days. During this period, the presence of chlorosis and foliar necrosis was evaluated and at the end of the study, the length of root, stem and leaves; being that from the concentration 1.0 ppm there is presence of chlorosis and at the concentration 5.0 ppm necrosis; in relation to the length of root, stem and leaves a decrease was observed proportional to the increase of the mercury concentration. A proximal analysis was also carried out, where a significant decrease in the percentage of moisture, ash, protein, fat and fiber was observed, as well as an increase in the percentage of carbohydrates for both plant species.

In the study of internal morphology it was found that mercury causes alterations at the level of cell wall, tissue organization and vascular system, both in root, stem and leaf.

Finally, when evaluating the phytoremediative capacity of the plant species, it was concluded that this will depend on the plant species and the mercury concentration found in the water, therefore the plant species with the greatest phytoremediative capacity was *N. officinale*, with a factor of bioaccumulation greater than 1000 mg / L up to the concentration of 2.0 ppm of mercury, while *H. ranunculoides* obtained a bioaccumulation factor greater than 1000 mg / L up to the concentration of 1.0 ppm of mercury

Key words: Phytoremediation; mercury; bioaccumulation factor (BAF); factor of traslocation (FT); atomic absorption.

INTRODUCCIÓN

La fitorremediación tiene como mecanismo a la bioacumulación, que consiste básicamente en absorber, concentrar, y precipitar metales pesados en el interior de las células de las especies vegetales. Estos procesos pueden darse en diferentes partes de la planta, como son vacuolas y pared celular de hojas, tallos y raíces. (1)

Para realizar este estudio se tomó en cuenta la alta contaminación del agua por metales pesados entre ellos el mercurio, cuya fuente son los residuos de actividades productivas como: la minería, industria, agricultura (fertilizantes y herbicidas), y también debido a causas naturales por fenómenos geológicos (meteorización, la erosión de las rocas y la lixiviación). Por tal motivo se buscan nuevas técnicas de descontaminación, una de estas sería la fitorremediación con macrófitas acuáticas como son: *N. officinale* e *H. ranunculoides* (2, 3).

En la región del Cusco, los recursos hídricos están siendo afectados principalmente por la actividad minera, en la cual se lleva a cabo procesos de lixiviación provocando la liberación de altas concentraciones de metales pesados entre ellos el mercurio. El mercurio debido a su alta toxicidad puede ocasionar efectos deletéreos en la salud. Se habla además de que dicho metal es bioacumulable, permaneciendo entre 18 y 30 años en el organismo, también compete con el Fe, Zn, Mn, Se, y Cu por los ligandos en sistemas biológicos alterando funciones metabólicas. Los metales se incorporan usualmente a las proteínas, algunas de las cuales funcionan como enzimas o catalizadores biológicos. (3, 4)

En el distrito de San Jerónimo-Cusco, encontramos las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo); que de comprobarse su capacidad fitorremediadora en relación a la contaminación con mercurio, podrán ser utilizadas en el tratamiento de aguas contaminadas por este metal, mediante la construcción de humedales artificiales especialmente en zonas afectadas por la actividad minera.

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

AAS:	Espectrofotometría de absorción atómica
BAF:	Factor de bioacumulación
FT:	Factor de traslocación
ICP –MS:	Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente
ICP- OES:	Espectrometría de emisión óptica de plasma
RGR:	Tasa de crecimiento relativo
AO:	Ácidos orgánicos
FQ:	Fitoquelatinas
CMPM:	Complejo de bajo peso molecular
CAPM:	Complejo de alto peso molecular
Hi:	Histidina
MT:	Metalotioneinas
MT1:	Metalotioneina de tipo 1
MT2:	Metalotioneina de tipo 2
MTs:	Metalotioneina de tipo s
APG IV:	Angiosperm Phylogenetic Group
LMP:	Límite máximo permisible
OMS:	Organización mundial de la salud
SH:	Grupo sulfhidrilo
ATP:	Adenosin trifosfato
FAA:	Formaldehido, ácido acético, alcohol
N:	Normalidad
SPSS:	Statistical Package for Social Science
ANOVA:	Análisis de varianza
MGDG:	Monogalactosil Diacilglicerol
DGDG:	Digalactosil Diacilglicerol
FC:	Fosfatidilcolina
FE:	Fosfatidiletanolamina

CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En países como México, Ecuador y Venezuela se han estudiado a diferentes especies vegetales que poseen capacidad fitorremediadora entre estas tenemos: Lenteja de agua, Jacinto de agua, Girasol, etc. En el Perú en las regiones como Lima, Amazonas, Trujillo se estudiaron a la Totora, Jacinto de agua y finalmente en nuestra región de Cusco se estudiaron al Bertero y Gigantón; con la finalidad de que sean utilizadas para el tratamiento de aguas y suelos mediante la fitorremediación, ya que estos países están siendo afectados por la contaminación con sustancias orgánicas e inorgánicas como son los metales pesados que constituyen un riesgo importante para la salud (5).

En al menos 70 países de Asia, África y América del Sur los recursos hídricos se ven alterados por la presencia de los metales pesados como el mercurio, entre ellos Brasil (Yanomami y Yekuana), Indonesia (Ipan y Sekoton) y siendo el Perú uno de los países más afectados como la región de Madre de Dios (25 comunidades de Nahua) y en la región del Cusco (Chumbivilcas y Espinar). Por lo que es necesario desarrollar una serie de métodos para enmendar el impacto ambiental causado. Entre estos métodos se encuentra la fitorremediación cuyo término surgió a finales del siglo XX basada en el empleo de especies vegetales para descontaminar suelos, aguas, aire y recuperar los ecosistemas afectados reduciendo in situ la concentración de contaminantes mediante procesos bioquímicos que conducen a la reducción, mineralización, degradación, volatilización y estabilización de los diversos tipos de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua y aire (3, 5).

Un estudio realizado en el año 2014, por el Ing. Pinto H. de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, sobre la contaminación de aguas por la minería en Tintaya (Cusco), concluye que de continuar con el consumo de estas aguas sin tratamiento de por medio, los pobladores seguirán expuestos a adquirir diferentes enfermedades (3).

Frente a esta problemática que afecta la salud debido a la contaminación de aguas por metales pesados, se realiza el presente estudio cuyo objetivo primordial es evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccillo); en relación a la contaminación con mercurio; que por medio de procesos bioquímicos conducen a un conjunto de métodos para degradar, asimilar, metabolizar o detoxificar metales pesados; lo cual dependerá de que presenten capacidad fisiológica y bioquímica para absorber, retener, reducir, mineralizar, volatilizar,

degradar o transformar dichas sustancias a formas menos tóxicas. Al determinar esta propiedad fitorremediadora podremos utilizar a estas especies en el ámbito biotecnológico como es la fitorremediación mediante la construcción de humedales artificiales. En esta técnica las plantas actúan como trampas o filtros biológicos que descomponen los contaminantes y estabilizan las sustancias metálicas presentes en el suelo y agua al fijarlos en sus raíces y tallos, o metabolizándolos tal como lo hacen los microorganismos para finalmente convertirlos en compuestos menos peligrosos y más estables, como dióxido de carbono, agua y sales minerales (3, 6).

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentarán capacidad fitorremediadora las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la concentración final de mercurio en raíz y parte aérea (hojas y tallos); de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo), por el método de ditizona - 3500 Hg. C para la extracción de mercurio y lectura por el método de espectrofotometría de absorción atómica.
2. Determinar la concentración final de mercurio en agua por el método de ditizona - 3500 Hg. C para la extracción de mercurio y lectura por el método de espectrofotometría de absorción atómica.
3. Determinar el factor de bioacumulación (BAF) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) por relación entre la concentración total de mercurio en la especie vegetal y la concentración final de mercurio en el agua.
4. Determinar el factor de traslocación (FT) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) por relación entre la concentración total de mercurio en la parte aérea y la concentración total de mercurio en la raíz.

5. Caracterizar la morfología interna raíz y parte aérea (tallos y hojas) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) antes y después de la contaminación con mercurio, mediante cortes histológicos.
6. Evaluar la presencia de clorosis y necrosis foliar mediante la observación de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) antes, durante y después de la contaminación con mercurio.
7. Realizar el análisis proximal (carbohidratos, proteínas, lípidos, fibra, ceniza y humedad) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) en raíz y parte aérea (tallos y hojas) antes y después de la contaminación con mercurio.

1.4 LIMITACIONES

1. No se puede trabajar con el agua de las minerías debido a que las cantidades de los contaminantes son pequeñas y no constantes debido al caudal, lo cual no nos permitirá obtener resultados estandarizados.
2. Las concentraciones en aguas contaminadas por metales en las minerías son muy pequeñas, para lo cual se requieren equipos de bajos límites de detección como el ICP-MS (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente). Cuyo análisis en estos equipos por muestra son muy elevados y no se encuentran en la ciudad del Cusco.

1.5 JUSTIFICACIÓN

Conocimientos

La vía principal de muchos metales tóxicos para la contaminación de aguas, suelos y aire está dada por las diferentes actividades industriales como son la minería, industria, agricultura, etc., y para esto es de suma importancia conocer si existen mecanismos para controlar estos problemas. (7)

Existen diferentes estudios sobre plantas fitorremediadoras que presentan capacidad bioacumuladora de metales, las cuales han sido utilizadas para el tratamiento y control de contaminación de aguas, suelos y aire, ejemplo de estas son: el Jacinto de agua, la Totora, el Gigantón, Bertero, Lenteja de agua, etc. (8).

Este estudio permite conocer otro tipo de especie vegetal fitorremediadora como es el *H. ranunculoides*, oriunda de la región del Cusco y de la cual no existen antecedentes relacionados a su capacidad fitorremediadora frente al mercurio.

Aplicabilidad

Hasta el momento en la ciudad del Cusco no se ha realizado un estudio a fondo de la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides* en relación a la contaminación con mercurio, por lo que al realizar este estudio será un aporte científico biotecnológico que dará opciones para la fitorremediación de aguas residuales contaminadas con este metal. Este aporte puede ser aplicado a través de la construcción de humedales artificiales, en donde se cultivarán las especies mencionadas como en el caso de la planta de tratamiento de la Universidad Tecnológica de Pereira - Colombia, en donde se encuentran construidos dos humedales artificiales, uno con medio de grava y otro con medio de arena y ambos sembrados con *Guadua angustifolia* Kunth (9).

Prioridad

El presente estudio se realizó debido a que en la actualidad en la región del Cusco no se le da la debida importancia a la contaminación del agua por metales pesados como el mercurio, asimismo un estudio realizado el año 2014 por el Ing. Pinto H., sobre la contaminación de aguas por la minería en Tintaya (Cusco), concluye que de continuar con el consumo de estas aguas sin tratamiento de por medio, los pobladores y animales seguirán expuestos a adquirir diferentes enfermedades, como por ejemplo: ceguera, trastornos neurológicos, abortos y malformaciones, por tal motivo es importante conocer que hay diferentes especies vegetales que pueden ser utilizadas para controlar las concentraciones de este metal gracias a su capacidad fitorremediadora (3, 9). Al determinar esta capacidad, las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides* podrán ser utilizadas como fitorremediadoras para controlar la contaminación del agua contaminada con mercurio.

1.6 HIPÓTESIS

Las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccillo) presentan capacidad fitorremediadora en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- **Zarazúa G., Ávila P., “Evaluación de los metales pesados Cr, Mn, Fe, Cu, Zn Y Pb en sombrerillo de agua (*Hydrocotyle ranunculoides*) del curso alto del Río Lerma, México”, Universidad Autónoma del Estado de México, 2013 (10)**

El objetivo de este estudio fue el de evaluar los factores de bioacumulación (BAF) de los metales Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb en las partes aéreas y sumergidas del sombrerillo de agua (*Hydrocotyle ranunculoides*) del curso alto del río Lerma. Se tomaron muestras de agua e *H. ranunculoides* en seis sitios del río, se analizaron por la técnica de espectrometría de emisión óptica de plasma (ICP-OES). Los resultados mostraron que el Zn y Fe presentaron los BAF más altos seguido del Cu, Mn, Cr y Pb, con excepción del Zn, los BAF fueron más altos en las estructuras sumergidas de la planta, lo que demuestra una baja movilidad para los metales analizados. Como resultado de este estudio se puede considerar que *H. ranunculoides* es un buen indicador de contaminación por metales en cuerpos de agua.

- **Arenas D., Lué M. y Torres G., “Evaluación de la planta *Lemna minor* como biorremediadora de aguas contaminadas con mercurio”, Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Dpto. De Química y Suelos, Cabudare, Estado Lara – Venezuela 2010 (11)**

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad biorremediadora de *Lemna minor* en función del tiempo en aguas contaminadas con mercurio mediante un diseño experimental de 3 bloques al azar con cinco réplicas: un grupo experimental con 100 g de *Lemna minor*, 7.5 L de agua contaminada con Hg (0,13 mg/L) y solución nutritiva; un grupo control con 100 g de *Lemna minor*, 7.5 L de agua y solución nutritiva y un grupo control con mercurio al nivel de 0,13 mg/L en agua destilada sin plantas.

La eficiencia de remoción de mercurio de la *Lemna minor*, en 22 días, fue de 30%. Las variables peso fresco, peso seco, nitrógeno y fósforo foliares no presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos. La absorción de potasio, fue afectada por los niveles de mercurio.

Para este estudio la planta *Lemna minor* representa una alternativa para la remoción de mercurio en aguas contaminadas hasta un nivel de 0,13 mg/L.

- **Torres J., “Fitorremediación de aguas residuales por hidroponía”, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México-México 2010 (12)**

El objetivo del presente trabajo fue utilizar la hidroponía como técnica para la fitorremediación de aguas residuales.

Se hizo un estudio comparativo de la capacidad de absorción de metales pesados contenidos en agua residual utilizando para esto las plantas de Menta piperita y Girasol por sus propiedades acumuladoras de metales pesados por medio de un procedimiento llamado fitorremediación hidropónica. Se utilizaron tres tipos de soportes, tezontle rojo, tezontle negro y arcilla en donde fueron colocadas las plantas previamente germinadas como en el caso del Girasol o en esquejes enraizados como en la *Menta piperita* y fortalecidos con solución nutritiva, para posteriormente ser colocados en las camas hidropónicas, recirculando el agua residual durante 6 semanas hasta su crecimiento total. Posteriormente las plantas fueron medidas, pesadas y analizadas en su contenido de metales pesados en raíz, tallo u hojas por medio del procedimiento Analítico de Absorción Atómica.

Se estableció un sistema hidropónico para el crecimiento de girasoles (*H. annuus*) y menta (*M. piperita*), con un sistema de recirculación con un flujo de 11.0 L/min de agua. El proceso utilizado no fue 100 % efectivo, la eliminación de compuestos de nitratos y fosfatos de las aguas residuales estudiadas fue parcial, alcanzando solo un 40% en la remoción de fosfatos y un 60% en la remoción de nitratos.

- **Fatih D., Zeliha L., “Evaluación del crecimiento y bioacumulación de *Nasturtium officinale* (Berro) expuesta a cadmio, cobalto y cromo”, Universidad Erciyes, Facultad de Artes y Ciencias, Departamento de Biología, Kayseri, Turquía, 2009 (13)**

El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de Cd, Co y Cr en el crecimiento de *Nasturtium officinale* y determinar la bioacumulación de metales pesados por esta planta. Las plantas de *N. officinale* fueron expuestas a diferentes concentraciones de Cd, Co y Cr (Cd: 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mM; Co: 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mM; Cr: 5, 10, 15, 20, 25 y 30 mM) durante 72 h. Luego estas se extrajeron del agua y se secaron en un horno de secado a 70°C por 24 h y luego se pulverizaron usando un mortero. Cada muestra se digirió con 10 ml de HNO₃, después de la digestión se ajustó a 25 mL con agua destilada. La concentración total de cada metal se determinó por Espectroscopía de Emisión Óptica de Plasma Acoplada.

Se concluyó que la absorción más eficiente de Cd, Co y Cr se produjo en las concentraciones de 0.5, 10 y 0.5 mM, respectivamente. También se observó que Cd y

Cr disminuyeron el crecimiento de la planta, mientras que con Co se incrementó ligeramente.

2.1.2 ANTECEDENTES NACIONALES

- **Poma L., Valderrama A., “Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio (II) y mercurio (II) con la especie *Eichhornia Crassipes* (Jacinto de agua)”, Universidad Nacional de Ingeniería Lima-Perú 2014. (14)**

El objetivo del presente trabajo fue el de realizar estudios para medir la capacidad de absorción de los iones metálicos Cd (II) y Hg (II) de la especie *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua).

Este estudio incluye ensayos donde se optimizan concentración de nutrientes, pH y concentración de iones metálicos, lo que se llevó a cabo a temperatura ambiente y con soluciones acuosas de Cd (II) y Hg (II), a las que fueron sometidas las muestras de *Eichhornia crassipes*. La concentración de Cd (II) fue determinada por Espectroscopía de Emisión Óptica de Plasma Acoplada y la del Hg (II), por un equipo de absorción atómica.

Los resultados obtenidos fueron: Dosis óptima 1mL de solución de nutriente A (nitrato de potasio, nitrato de amonio y superfosfato triple) y 0,5 mL de solución de nutriente B (sulfato de magnesio, quelato de hierro y solución de micronutrientes), pH óptimo 5, concentración óptima de Cd (II) y Hg (II) 5 mg/L para cada ion. Con estos parámetros se inició la remoción de 5 mg/L de los iones metálicos contenidos en 1 litro de solución. Los porcentajes de absorción fueron de 16,56 % para Cd (II) y 15,6 % para el Hg (II) en un periodo de 7 días, demostrando así la efectividad de la técnica de fitorremediación.

- **Paz Arqueros A. “Efecto del arsénico sobre el crecimiento y la actividad ascorbato peroxidasa en *Rorippa Nasturtium aquaticum* (L.)”, Universidad Nacional de Trujillo, Escuela profesional de Biología, Trujillo-Perú 2014. (15)**

El objetivo del presente trabajo fue el de determinar el efecto del As en el crecimiento y actividad Ascorbato Peroxidasa en *Rorippa nasturtium aquaticum*.

Las plantas fueron obtenidas por propagación vegetativa, tratadas con 0, 1, 3 y 5 mg/L de As y cultivadas durante 7, 14 y 28 días en condiciones de invernadero.

Los resultados obtenidos fueron que la longitud y peso seco de raíces, tallos y hojas de *Rorippa nasturtium aquaticum* disminuyeron cuando fueron tratadas con 1, 3 y 5 mg/L de As. El mayor efecto del crecimiento se produjo en la raíz de *Rorippa nasturtium aquaticum* expuesta a las concentraciones crecientes de As y a las concentraciones de 1, 3 y 5 mg/L de As aumentó la actividad Ascorbato peroxidasa en raíces y hojas de *Rorippa nasturtium aquaticum*. Esto debido a que la variación en los niveles de la

actividad de la APX en *Rorippa nasturtium aquaticum* puede asociarse a una adaptación bioquímica de esta especie a la toxicidad producida por el arsénico, debido a que la acumulación de metales en las plantas suele ir acompañada de una variedad de cambios metabólicos, asociado a cierto grado de tolerancia para poder sobrevivir.

2.1.3 ANTECEDENTES LOCALES

- **Delgado M., “Evaluación de la capacidad remediadora de *Elodea Potamogeton* en aguas contaminadas con Plomo”, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Escuela profesional de Biología, Cusco-Perú 2011. (16)**

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la capacidad remediadora de *Elodea Potamogeton* en agua contaminadas con plomo. Para determinar la capacidad remediadora de *Elodea potamogeton*, se disolvió la sal de plomo en agua potable declorada, se trabajó con un testigo y concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 ppm de plomo, cada una de ellas con tres repeticiones. Se utilizaron cajas de vidrio con tres litros de agua para cada repetición, añadiéndose a cada una 3.10 gr. de planta.

El experimento duró 16 días y se realizó a condiciones controladas: T°= 18°C, 12 horas de luz, pH de 7.31; adicionalmente, cada dos días se incorporó CO₂ para estabilizar el pH y nutrientes basados en N, P, K y micronutrientes.

Se realizaron los análisis por metodología de espectroscopía de absorción atómica, determinado que *Elodea potamogeton*, posee una capacidad de absorción 11.95 mg Pb/gr de planta cerca una concentración de 40 ppm del contaminante, pasada esa concentración la capacidad decrece. Así mismo, se observó la tolerancia de la planta en estudio frente al contaminante.

- **Fernández U, Luque C. “Remoción de plomo de aguas contaminadas usando *Trichocereus cuzcoensis*”, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Carrera profesional de Ingeniería Química, Cusco-Perú 2007.(17)**

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la capacidad de remoción de plomo de aguas contaminadas usando *Trichocereus cuzcoensis*.

Lograron obtener un agente de absorción a partir de esta planta y determinaron su capacidad de absorción de iones Pb (II). Determinaron los parámetros más adecuados para la adsorción de Pb (II) mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica, siendo: dosis de adsorbente de 0.6 gr. Velocidad de agitación 90 rpm y un tiempo de absorción de seis horas. Trabajaron con una concentración inicial de 30 ppm. Finalizado el proceso de absorción se obtuvo una concentración final de 2.78 ppm de Pb (II), lográndose una capacidad máxima de absorción de 136 mg/g y un porcentaje de adsorción de 90.73 %.

2.2 BASES TEÓRICO-CIENTÍFICAS

2.2.1 FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación es la descontaminación de los suelos, depuración de aguas residuales o la limpieza del aire interior, usando plantas, algas y hongos. La etimología proviene del griego “phyton” =planta y del latín “remedium”=restablecer el equilibrio (1, 18).

En los últimos años surgieron tecnologías basadas en el empleo de organismos vivos para descontaminar suelos y recuperar los ecosistemas afectados. Cuando estas tecnologías se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación. Por lo tanto, estas tecnologías son especialmente útiles para su aplicación en grandes superficies, con contaminantes relativamente inmóviles o con niveles de contaminación bajo, y deben considerarse procesos de recuperación a largo plazo (19, 20).

Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente al ecosistema, sólo aplican prácticas agrícolas comunes; además, el proceso se realiza *'in situ'* evitando costosos transportes. Las ventajas de la aplicación biológica es que incluyen mejores especificaciones que los métodos físicos y químicos, evitando por ejemplo, el uso de energía e insumos químicos (21).

La fitorremediación se da en:

- 1. Aguas residuales:** La fitorremediación también se utiliza para la descontaminación de las aguas cargadas de materias orgánicas o contaminantes diversos (metales, hidrocarburos, plaguicidas) (21).
- 2. Suelos:** Esta técnica se utiliza para descontaminar biológicamente la tierra contaminada por metales y metaloides, plaguicidas disolventes, explosivos, petróleo y sus derivados, radioisótopos y contaminantes diversos (21).
- 3. El aire:** También se puede limpiar el aire de zonas cerradas a través de plantas que los descontaminan (basado en la investigación proyecto de Ley Wolverton para la NASA en los años 1980-1990). Esta investigación se ha desarrollado significativamente en los últimos años (21).

2.2.1.1 PRINCIPIO DE LA DESCONTAMINACIÓN

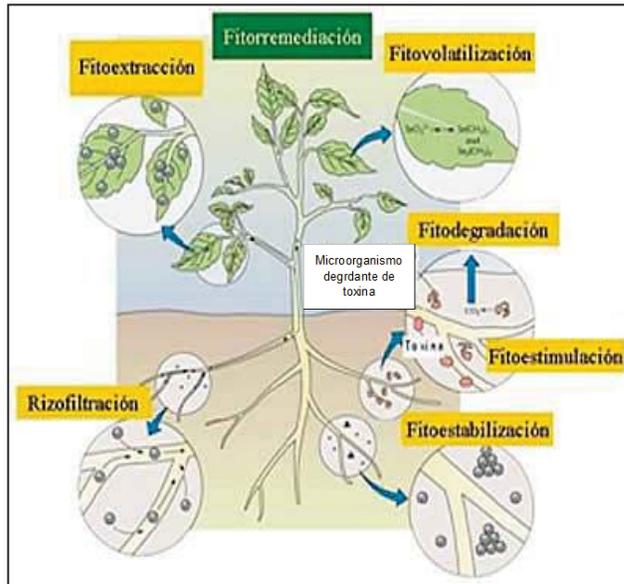
Las plantas van a absorber el contaminante para metabolizarlo o almacenarlo, reduciendo o evitando la liberación de contaminantes en otras zonas del medio (fitoestabilización). Con mucha frecuencia los compuestos orgánicos pueden ser degradados y metabolizados para el crecimiento de la planta, la contaminación se elimina así. En el caso de los compuestos inorgánicos contaminantes (metales y metaloides), únicamente es posible su

fitoestabilización o fitoextracción, porque estos tipos de agentes contaminantes no son biodegradables (19, 21).

2.2.1.2 TIPOS DE FITORREMEDIACIÓN

Las plantas pueden incorporar las sustancias contaminantes mediante distintos procesos que se representan en la ilustración N° 1 y se explican en la tabla N° 1:

Ilustración N° 1: Tipos de fitorremediación, indicando en que zona de la planta es donde ocurre el proceso



Fuente: Cabo Sergio Martín, 2008. (1)

Tabla N° 1: Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes

TIPO	PROCESO INVOLUCRADO	CONTAMINACIÓN TRATADA
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar metales en las partes cosechables (hojas y raíces).	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc.
Rizofiltración	Las raíces de las plantas se usan para absorber, precipitar y concentrar metales pesados a partir de efluentes líquidos contaminados y degradar compuestos orgánicos.	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc isótopos radioactivos, compuestos fenólicos.
Fitoestabilización	Las plantas tolerantes a metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje a napas subterráneas o al aire.	Lagunas de desecho de yacimientos mineros. Propuesto para fenólicos y compuestos clorados.
Fitoestimulación	Se usan los exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos).	Hidrocarburos derivados del petróleo y poliaromáticos, benceno, tolueno, atrazina, etc.
Fitolatilización	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración.	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano).
Fitodegradación	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	Municiones (nitrobenceno, nitrotolueno), atrazina, solventes clorados, pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, etc.

Fuente: Cabo Sergio Martín, 2008 (1)

2.2.1.3 VENTAJAS Y LIMITACIONES DE LA FITORREMEDIACIÓN

A. Ventajas:

1. Las plantas pueden ser fácilmente objeto de seguimiento.
2. Recuperación y reutilización de metales valiosos (las empresas que se especializan en la fitominería).
3. Es el método menos destructivo, ya que utiliza los organismos naturales y preserva el estado natural del medio ambiente (en comparación con el uso de procesos químicos, no hay ningún impacto negativo en la fertilidad de la tierra) (21).

B. Desventajas:

1. La fitorremediación se limita a la superficie y profundidad ocupada por las raíces (tengamos en cuenta que muchos contaminantes basados en los metales también se mantienen en la capa superior del suelo).
2. Un crecimiento lento y baja biomasa requiere una inversión considerable en tiempo y a veces la adición de agentes quelantes u otras sustancias (para contaminantes inorgánicos como los metales pesados). Pueden ser utilizados con plantas de crecimiento rápido, que muestra una amplia gama de selección para la mayoría de contaminantes de todo tipo.
3. El nivel y el tipo de contaminación afecta a la fitotoxicidad de los contaminantes. En algunos casos, el crecimiento o la supervivencia de las planta pueden estar disminuidos.
4. Posible bioacumulación de contaminantes a través de la cadena alimentaria, desde el nivel de los consumidores primarios a los secundarios. Es esencial disponer de plantas de manera responsable y no consumir las plantas utilizadas para descontaminación del terreno. (921)

2.2.1.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PLANTAS PARA LA FITORREMEDIACIÓN

La eficiencia de remoción de contaminantes durante el proceso de fitorremediación dependerá principalmente de la especie de planta utilizada, el estado de crecimiento de las plantas, y el tipo de metal a remover. Por lo mismo, para lograr buenos resultados, las plantas a utilizar deben tener las siguientes características: (9, 16)

1. Ser tolerantes a altas concentraciones de metales.
2. Ser acumuladoras de metales.
3. Tener una rápida tasa de crecimiento y alta productividad.
4. Ser especies locales, representativas de la comunidad natural.
5. Ser fácilmente cosechables.

2.2.2 BIOACUMULACIÓN

El término bioacumulación hace referencia a la acumulación neta, con el paso del tiempo, de metales (u otras sustancias persistentes) en un organismo a partir de fuentes tanto bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua). (22)

2.2.2.1 FACTOR DE BIOACUMULACIÓN (BAF)

El factor de bioacumulación (BAF) se utiliza para analizar la proporción en la que se está acumulando el metal, el cual relaciona la concentración del metal en los tejidos y la del medio de acuerdo a la expresión:

$$\text{BAF} = \frac{[\text{Metal}] \text{ tejidos}}{[\text{Metal}] \text{ agua}}$$

Donde:

[Metal] tejidos= Es la concentración total del metal en el tejido vegetal.

[Metal] agua= Es la concentración de metal inicial en el agua contaminada.

Interpretación

Las plantas con BAF ≥ 1000 mg/L son considerados como acumuladoras o hiperacumuladoras, las que presentan valores < 1000 mg/L, son consideradas como tolerantes y las que presentan valores < 100 mg/L se consideran como plantas exclusoras (previenen la entrada de metales) (23).

2.2.2.2 FACTOR DE TRASLOCACIÓN

El factor de traslocación consiste en el paso del metal de la raíz a los diferentes órganos de la planta (tallo, hoja, flores y frutos). El factor de traslocación se obtiene dividiendo la concentración del metal en el órgano de interés entre la concentración del metal en la raíz (22).

$$\text{FT} = \frac{[\text{Hg}] \text{ parte aérea}}{[\text{Hg}] \text{ raíz}}$$

Donde:

[Hg] parte aérea= Es la concentración total de mercurio en parte aérea.

[Hg] agua= Es la concentración total de mercurio en raíz.

Interpretación:

El factor de traslocación indicara qué especies de plantas pueden ser consideradas acumuladoras, tolerantes o exclusoras. Las plantas con FT ≥ 1 mg/L son considerados como acumuladoras o hiperacumuladoras, las que presentan valores < 1 mg/L, son consideradas como tolerantes y las que presentan valores < 0.1 mg/L son consideradas como exclusoras (23).

2.2.2.3 MECANISMO DE ACUMULACIÓN DE METALES EN LAS PLANTAS

La acumulación de metales por los organismos acuáticos se presenta en un proceso que consiste en dos pasos: un primer paso de absorción rápida o vinculación a la superficie biológica (biosorción), seguido por un segundo paso de transporte lento e irreversible, controlado por difusión al interior de la célula (bioacumulación), que puede ser por difusión del ion metálico a través de la membrana celular o por transporte activo por una proteína transportadora. (24, 25)

En las plantas, los efectos de los metales empiezan en la raíz, ya que este es el órgano responsable de asimilar los nutrientes del medio, y afectan sucesivamente el resto de la planta. En las hojas se producen graves daños en los cloroplastos y las mitocondrias, lo que altera los procesos de fotosíntesis y de respiración. En una fase más avanzada de alteración se producen intensos cambios metabólicos y de regulación celular, y ocurre finalmente el estímulo de la senescencia por acumulación crónica del metal pesado, lo que puede resultar la muerte de la planta. (25)

En la tabla N° 2, se citan algunos ejemplos sobre la acumulación de metales pesados en las plantas acuáticas:

Tabla N° 2: Acumulación de metales pesados en las plantas acuáticas

Especie	Resultado	Referencia
<i>Eichornia crassipes</i>	Acumulación máxima de 0,20 ppm en los brotes y 16,0 ppm en las raíces. A 1 ppm de mercurio se alcanzan las concentraciones máximas después de unos 16 días.	Riddle <i>et al.</i> , 2002
<i>Eichhornia crassipes</i>	Bioconcentración en los tejidos de las raíces dependiendo del tiempo y la concentración.	Lenka <i>et al.</i> , 1990
<i>Eichornia crassipes</i>	2,79 moles Hg/g peso seco. Mayor acumulación en raíces que en brotes.	Jana, 1988
<i>Eichornia crassipes</i>	Contenidos de mercurio de 110-1.217 g/kg peso seco en invierno; (7,6-16,2) g/kg peso seco en verano. Tendencia del mercurio a permanecer en la raíz.	Ramos <i>et al.</i> , 2000
<i>Hydrilla verticillata</i>	Acumulación de 4,21 mol Hg/g peso seco	Jana (1988)
<i>Ipomoea aquatica</i>	Mayor proporción de metales en las raíces, las cuales tienen mayor tolerancia que los brotes a las altas concentraciones internas de metal.	Gothberg <i>et al.</i> , 2004
<i>Oedogonium areolatum</i>	Acumulación de 3,35 mol Hg/g peso seco.	Jana, 1988

Fuente: Posada M. Isabel y Arroyave M. Pilar, 2006. (25)

2.2.2.4 MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS METALES PESADOS

Las plantas que crecen en medios contaminados han desarrollado mecanismos de tolerancias a dichos ambientes, los cuales se clasifican dentro de dos categorías:

- **Exclusión:** Implica la formación de compuestos bioquímicos en el medio ambiente o en la pared celular de las plantas; precipitando los metales al exterior a través de secreciones y otros compuestos orgánicos (24).
- **Inclusión y acumulación:** Comprende la captura en el interior de las células donde no tiene efectos tóxicos como en la vacuola y la pared celular; detoxificación interna de los metales a través de la incorporación de proteínas, ácidos orgánicos, histidina y péptidos ricos en grupos tiol denominados fitoquelatinas (24).

2.2.2.5 MECANISMOS INTERNOS DE TOLERANCIA

- **Exudados radicales:** Diversos estudios han demostrado que los exudados radicales están formados principalmente por ácidos orgánicos de bajo peso molecular (AO), generados principalmente a partir del ciclo de ácido tricarbóxicos. La importancia de los AO en la tolerancia a metales en el sistema radical se debe a que éstos pueden influir en la solubilidad de elementos esenciales y no esenciales de manera directa mediante la acidificación, la quelación, la precipitación y procesos de óxido–reducción en la rizósfera, y de forma indirecta a través de efectos en la actividad microbiana, en las propiedades físicas de la rizósfera y en la dinámica de crecimiento de la raíz. La participación de los AO en la tolerancia a metales se observa principalmente en plantas expuestas al aluminio (25). La producción de AO en las plantas posiblemente se genera cuando el metal entra en contacto con el ápice de la raíz, activando el flujo de AO, lo cual permite su ingreso a la célula por diferentes rutas. Independientemente de los pasos que siga el metal, se produce una inducción del metabolismo de AO y se lleva a cabo la protonización de los compuestos orgánicos, los cuales son enviados al citosol en donde forman complejos con los cationes no esenciales. Además, el pH citosólico se mantiene estable mediante la función coordinada de los transportadores de AO y los canales de K. (25)
- **Quelación de los metales en el citosol por diversos ligandos:** La quelación se puede definir como la capacidad de una molécula para formar un complejo con un metal y así formar un nuevo compuesto con propiedades químicas diferentes del original. La quelación es un proceso homeostático en el que participan dos tipos de moléculas:

- Moléculas transportadoras, encargadas de transferir iones específicos de metales a organelos particulares como las vacuolas, los cloroplastos y las mitocondrias que los requieran (25).
- Los ligandos de alta afinidad como las fitoquelatinas, las metalotioneinas, los ácidos orgánicos, las proteínas y los aminoácidos, los cuales contribuyen a la desintoxicación a la vez que mantienen estable la concentración de iones de metales en el citosol (25).

A.1. Fitoquelatinas (FQS): Los ligandos de alta afinidad mejor caracterizados en las células de las plantas son las fitoquelatinas (FQS) y las metalotioneinas (MTS). Las FQS han sido identificadas en una amplia variedad de plantas, en ciertos microorganismos y en hongos. En las plantas, las fitoquelatinas son péptidos con la fórmula general $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ ($n=2\text{-}11$), en donde las estructuras $(\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly}$ (FQ2) y $(\gamma\text{-Glu-Cys})_3\text{-Gly}$ (FQ3) son las más comunes (25).

El mecanismo de acción de las FQS en las plantas consiste en la formación de complejos no tóxicos con iones de metales mediante la interacción con los grupos tioles de cisteína (Cys), formando un complejo FQ-metal de bajo peso molecular (CBPM), el cual posteriormente se une a iones sulfuro (S^{2-}) en el citosol, estabilizando al CBPM, y forma moléculas complejas de alto peso molecular (CAPM). Posteriormente, estas moléculas atraviesan el tonoplasto, posiblemente usando transportadores ABC (ATP-binding cassette); una vez dentro de la vacuola, los ácidos orgánicos presentes (malato, citrato, oxalato) retienen a los iones de los metales y disocian el complejo FQ-metal. Todavía no está claro qué le ocurre a las FQS una vez separada del metal; sin embargo, sugieren que posiblemente las FQS pueden ser degradadas en la vacuola o bien retornadas al citoplasma para formar nuevos complejos con los iones de los metales (25). En organismos vegetales acuáticos y terrestres, existe evidencia que muestra que las FQS desempeñan una importante función en la desintoxicación de diferentes metales, debido a que las concentraciones elevadas de distintos iones pueden estimular su síntesis; las FQS secuestran a los metales (esenciales y no esenciales) y los distribuyen preferentemente a la vacuola de los distintos tejidos (25). No obstante, su papel en la tolerancia no está claro y puede variar entre las especies de organismos vegetales y el tipo de metal.

A.2. Metalotioneinas: Las metalotioneinas (MTS) son proteínas de bajo peso molecular (4–8 kDa), generadas transcripcionalmente y con capacidad de ligar iones metálicos (por su alto contenido en residuos de cisteína, 30% del total de la proteína) para evitar así una intoxicación por metales. Su descubrimiento tiene alrededor de 40 años y se

describieron por primera vez como un tipo de proteína quelatante del Cd en el hígado de caballo. Las MTS se clasifican en dos clases, considerando las secuencias de aminoácidos que las conforman. La clase MT1 incluye únicamente a las MTs de mamíferos, mientras que la clase MT2 incluye a las MTs de hongos, invertebrados y plantas (25).

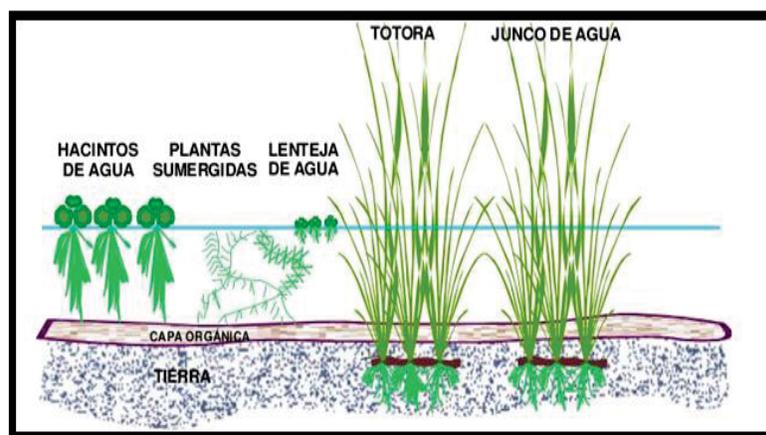
Las MTs de clase II presentes en las plantas se agrupan en cuatro tipos (Mt1, Mt2, Mt3, Mt4) de acuerdo con el ordenamiento de los residuos de cisteína en la proteína, y fueron identificadas por primera vez en embriones maduros de trigo como una proteína 'quelatante' del Zn. El mecanismo de acción de las MTs en la regulación homeostática y la tolerancia a los metales en las plantas no está completamente establecido (25).

A.3. Histidina: La histidina (Hi) es un aminoácido libre que desempeña una función importante en la tolerancia a metales en plantas hiperacumuladoras, ya que puede secuestrar al metal mediante enlaces con sus grupos carboxilato, amino e imadazol. La formación de complejos de Hi-metal ha sido observada en raíces de plantas hiperacumuladoras como *Alyssum lesbiacum* expuestas principalmente a Ni; en este caso, la Hi puede actuar quelando al metal, facilitando así el transporte del metal de la raíz al tallo vía xilema y su posterior acumulación en vacuola por los AO (25).

2.2.3 MACRÓFITAS ACUÁTICAS

El término macrófita acuática, se refiere a las formas macroscópicas de vegetación acuática y comprende las macro algas, las escasas especies de pteridofitos y las verdaderas angiospermas (9, 26).

Ilustración N° 2: Plantas acuáticas



Fuente: Santos Cirujano, Ana Meco Molina (9)

De acuerdo a la forma y la fisiología se tiene una clasificación simple y clara de las macrófitas acuáticas: (9, 26)

1. **Plantas flotantes**, se distinguen por la habilidad para derivar el dióxido de carbono y las necesidades de oxígeno de la atmósfera directamente. Las plantas reciben sus nutrientes y minerales desde el agua. La especie más utilizada en la depuración ha sido el Jacinto de Agua.
2. **Plantas sumergidas**, se distingue por la habilidad para absorber oxígeno, dióxido de carbono, y minerales de la columna de agua. Las plantas sumergidas se inhiben fácilmente por la turbiedad alta en el agua porque sus partes fotosintéticas están debajo del agua.
3. **Plantas emergentes**, son plantas que viven en aguas poco profundas, arraigadas en el suelo, cuyos tallos y hojas emergen fuera del agua, no sufren limitaciones de agua y tienen un mayor acceso a la luz.

Las macrófitas acuáticas pueden aportar algunos beneficios como: (9)

1. Pueden utilizarse para alimentación humana, del ganado, de peces y otros animales.
2. Pueden ser utilizadas como fertilizantes.
3. Pueden usarse para purificación del agua.
4. Para uso medicinal y en cosmetología.
5. Para producción de celulosa.
6. Como fuente de producción de biogás.

Aunque la presencia de la misma en abundancia genera ciertos inconvenientes, algunos de ellos son: (9)

1. Favorecen la ausencia de oxígeno en el cuerpo de agua (en grandes coberturas de macrófitas flotantes).
2. Problemas en represas, en puentes y obras de ingeniería en general por acumulación de macrófitas flotantes.
3. Problemas en lugares de recreación debido a que al encontrarse en grandes cantidades, hay gran cantidad de materia en descomposición y produce mal olor.
4. Pueden actuar como fuente de vectores propagadores de enfermedades y plagas.
5. Taponamiento de canales de riego y de navegación.

2.2.4 DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

Las especies vegetales que se utilizaron durante el proceso de fitorremediación fueron identificadas y clasificadas en el Herbario Vargas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, las cuales se describen a continuación:

2.2.4.1 *Nasturtium officinale* (Berro)

En la clasificación APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group) la ubicación taxonómica corresponde a:

Posición sistemática:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takh.,

Orden: Brassicales Bromhead

Familia: Brassicaceae Burnett

Género: *Nasturtium* W. T. Aiton.

Especie: *Nasturtium officinale* W. T. Aiton.

Nombres vulgares: Berro, berros

Nombre científico: *Nasturtium officinale* W. T. Aiton.

- **Descripción botánica**

Planta acuática perenne, enraizada, con raíz fibrosa. Tallos ascendentes, robustos, fistulosos, entre 10-50 cm de altura, algo carnosos, muy ramificados y con raíces adventicias en los nudos sumergidos. Hojas alternas, lámina simple, ovada a suborbicular o más frecuente pinnada, con 1-5 pares de folíolos, elípticos u ovados, bordes lisos a levemente sinuosos de 4-12 cm de longitud, las terminales más grandes que el par basal. Flores pequeñas agrupadas en racimos terminales, 4 pétalos blancos, 3-5 mm longitud. Fruto silicua oblonga, algo arqueada hacia el ápice, 1-2 cm de longitud, más largo que el pedúnculo. Florece desde setiembre hasta noviembre aproximadamente; fructifica de octubre a diciembre (27, 28).

Crece en los cursos de agua en donde la corriente y profundidad del agua son favorables o en aguas lólicas poco profundas, de escaso caudal y sustrato arenoso, con las hojas superiores y las flores completamente emergentes (27).

- **Distribución geográfica**

Abunda en Europa, Asia y América (Venezuela, Bolivia, Argentina, Uruguay, Chile y Perú), en la región de Cusco crece en los alrededores de la ciudad entre los 3200 a 3500 msnm en charcos, alrededor de los manantiales y riachuelos como por ejemplo el riachuelo de K´ayra-San Jerónimo. (27, 30)

- **Usos:**

El berro está recomendado principalmente para problemas renales, tratamiento de dolores de estómago. También el berro se utiliza para tratar la anemia, bocio y diabetes. Es rica en vitaminas y minerales (vitamina C, E, beta carotenos) de gran utilidad como antioxidantes que eliminan los radicales libres teniendo una importante acción en la prevención de los cánceres por este motivo. (27, 28)

2.2.4.2 *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

En la clasificación APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group) la ubicación taxonómica corresponde a:

Posición sistemática:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Asteranae Takht.

Orden: Apiales Nakaid

Familia: Araliaceae Juss,

Género: *Hydrocotyle* L.

Especie: *Hydrocotyle ranunculoides* L. f.

Nombres vulgares: Matecillo, redondita de agua, sombrerillo de agua

Nombre científico: *Hydrocotyle ranunculoides* L. f.

- **Descripción botánica**

Planta con tallos postrados o flotantes, delgados a suculentos, rizomatosos, glabros, hasta de 1.65 mm de diámetro, internodos cortos, hasta de 2.5 cm de largo; hojas reniformes, no peltadas, de 5 a 6 lobos e igual número de nervios, cada lobo obtuso, irregularmente crenado, terminando en una estructura puntiforme; hasta de 3 x 3.5 cm, glabras por haz y envés, una por nudo; peciolo delgado, sulcado, glabro, largo, hasta de 18 cm de largo y 1.5 mm de diámetro; estípulas interfoliares, membranáceas, oblongas, caducas, hialinas, con estrías vinotinto, hasta de 3.7 x 5 mm, 2 en cada nudo; pedúnculos solitarios, glabros, cortos, hasta de 2.5 cm de largo; inflorescencia en umbelas simples, de 8-10 flores, involucro con brácteas pequeñas, ovadas, persistentes, hialinas, con máculas vinotinto; pedicelos filiformes, hasta de 1 mm de largo; flores pequeñas con pétalos blancos, ovados, uninervios, con ápice agudo, hasta de 1 x 0.6 mm, anteras de 0.25 mm de largo, filamentos de 0.4 mm de largo, ovarios glabros, de 0.9 mm de diámetro; frutos grandes, ovado de 2.5 mm de diámetro (29, 31).

- **Distribución geográfica**

H. ranunculoides en América se distribuye desde Estados Unidos hasta Chile; también se encuentra en África. En Colombia se registra en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Casanare, Cundinamarca, Risaralda,

Santander y Valle del Cauca, entre los 110 y 3850 m de altitud y crece desde la franja tropical hasta el páramo, en ambientes abiertos, asociada a cuerpos de agua.

En la región de Cusco crece mayormente a los 3500 msnm en humedales, lagunas y riachuelos, como por ejemplo en el riachuelo de K'ayra-San Jerónimo, también se encontró en abundancia en las colinas de Sacsayhuamán. (27, 31)

- **Usos:**

H. ranunculoides se vende como una planta de acuario tropical. La planta ha sido estudiada para el tratamiento de aguas residuales con un cierto éxito.

Su tasa de crecimiento rápido proporciona una fuente de alimento de ganado adecuado con alta proteína cruda (31).

2.2.5 METALES PESADOS

De acuerdo a Núñez y otros (2008): “El término “metal pesado” suele referirse a metales cuyo peso específico es superior a 5 g/cm³ y que tiene un número atómico por encima de 20”. (33)

Los metales, en cantidades mínimas son esenciales para la vida, siempre y cuando sean en concentraciones menores al 0.01% de la masa total del organismo, ya que si existe un aumento pueden provocar varios efectos desde nocivos hasta letales para los seres vivos (33).

Los metales pesados tóxicos más conocidos son el mercurio, plomo, cadmio y arsénico. Las sales solubles en agua de los metales pesados como el mercurio, plomo y cadmio son muy tóxicos y acumulables por los organismos que los absorben, los cuales a su vez son fuente de contaminación de las cadenas alimenticias al ser ingeridos por alguno de sus eslabones. (4)

2.2.5.1 PARÁMETROS DE LA CALIDAD Y LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES

El agua potable, debe de cumplir con las disposiciones legales nacionales, a faltas de éstas se toman en cuenta normas internacionales. Los límites máximo permisibles (LMP) referenciales para el agua potables de los parámetros que se controlan actualmente, se indican en el siguiente tabla.

Tabla N° 3: Límites Máximos Permisibles (LMP) Referenciales de los Parámetros de Calidad del Agua.

PARÁMETRO	LMP	Referencia
Coliformes totales, UFC/100 mL	0 (ausencia)	(1)
Coliformes termotolerantes, UFC/100 mL	0 (ausencia)	(1)
Bacterias heterotróficas, UFC/100 mL	500	(1)
Ph	6.5-8.5	(1)
Turbiedad, UNT	5	(1)
Conductividad, 25°C uS/cm	1500	(3)
Aluminio, mg/L	0,2	(1)
Plomo, mg/L	0,1	(2)
Cadmio, mg/L	0,003	(1)
Arsénico, mg/L	0,1	(1)
Mercurio , mg/L	0,001	(1)
Selenio , mg/L	0.05	(2)

Fuente: Ministerio de Salud, Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano (34)

Notas:

(1) Valores tomados provisionalmente de los valores guía recomendados por la Organización Mundial de la Salud (1995).

(2) Valores establecidos en la norma nacional “Reglamento de Requisitos Oficiales físicos, químicos y bacteriológicos que deben reunir las aguas de bebida para ser consideradas potables”, aprobado por Resolución Suprema del 17 de Diciembre de 1946.

(3) En el caso de los parámetros de conductividad y dureza, considerando que son parámetros que afectan solamente la calidad estética del agua, tomar como referencia los valores indicados, los que han sido propuestos para la actualización de la norma de calidad de agua para consumo humano especialmente para aguas subterráneas.

2.2.5.2 MERCURIO

El mercurio es un metal blanco plateado brillante en estado líquido a temperatura ambiente, este generalmente se utiliza en termómetros y en algunos interruptores eléctricos. A temperatura ambiente, el mercurio metálico se evapora parcialmente, formando vapores de mercurio, estos vapores son incoloros e inodoros. (35)

Cuanta más alta sea la temperatura ambiente, más vapores de mercurio se emanarán.

El mercurio se da de manera natural en el medio ambiente y existe en una gran variedad de formas. Al igual que el plomo y el cadmio, es un elemento constitutivo de la tierra. En su forma pura, se lo conoce como mercurio “elemental” o “metálico”. Rara vez se le encuentra en su forma pura, como metal líquido. El mercurio puede enlazarse con otros

compuestos como mercurio monovalente o divalente. A continuación se muestra una tabla con sus propiedades fisicoquímicas (35, 36).

Tabla N° 4: Propiedades fisicoquímicas del mercurio

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL MERCURIO	
Punto de ebullición	357°C
Punto de fusión	-39°C
Densidad relativa (agua = 1)	13,5
Solubilidad en agua:	Ninguna
Presión de vapor, Pa a 20°C	0,26
Densidad relativa de vapor (aire = 1)	6,93 g/mL
Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1)	1,009 g/mL

Fuente: Fichas internacionales de seguridad química, Mercurio (35)

2.2.5.2.1 CICLO DEL MERCURIO

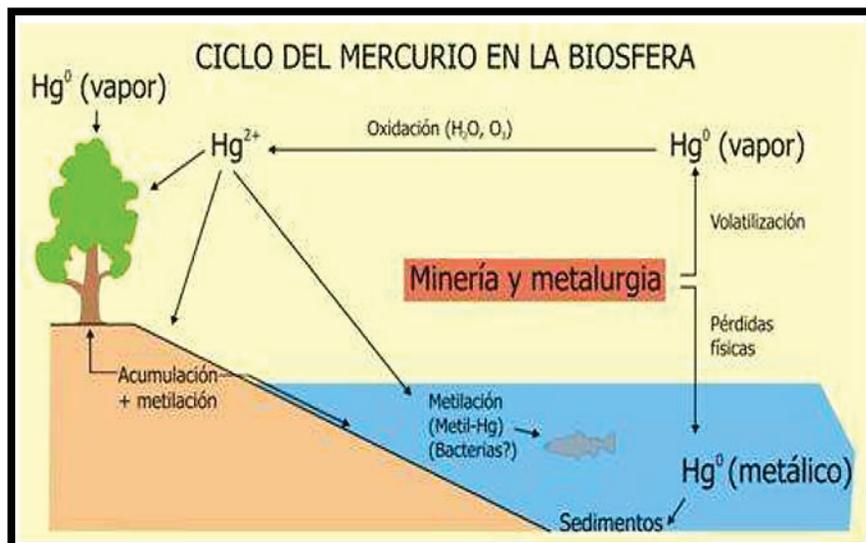
El mercurio es emitido a la atmósfera a partir de las fuentes naturales y antropogénicas en forma de vapor elemental (Hg^0), posteriormente es oxidado a ión mercúrico (Hg^{2+}) con la presencia de microorganismos aerobios donde participa la catalasa, enzima importante en el ciclo del oxígeno (37).

En los sedimentos de aguas oceánicas y continentales se realiza la metilación y luego la bioacumulación, que puede ser de dos maneras, una anaeróbica y otra aerobia. La primera involucra bacterias anaeróbicas las cuales metilan el mercurio inorgánico (Hg^{2+}) usando la metilcobalina sintetizada por bacterias metanogénicas. Entre los organismos anaerobios que metilan el mercurio pueden destacarse *Clostridium cochlearium* y *Desulfovibrio desulfuricans* (37).

La segunda vía bioquímica involucra las bacterias aeróbicas, las cuales incluyen: *Pseudomonas spp*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

Entre los hongos que metilan al mercurio por esta vía tenemos *Asperigillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Neurospora crasa*. La eficiencia de la metilación va a depender de factores como la actividad microbiana y la concentración de mercurio biodisponible (37).

Ilustración N° 3: Ciclo del Mercurio



Fuente: Departamento de Ingeniería Geológica y Minas, 2005 (37)

2.2.5.2.2 USOS DEL MERCURIO

Por ser el único metal líquido, se utiliza en un gran número de productos y procesos que aprovechan sus singulares características (38).

- Como metal:** Para extracción de oro y plata, en termómetros, lámparas fluorescentes, como catalizador en la industria cloroalcalina, etc.
- Como compuestos químicos:** En baterías, biocidas en la industria de papel y pinturas, explosivos, pigmentos y colorantes, etc.

2.2.5.2.3 TOXICOLOGÍA

La toxicidad del mercurio depende de su forma química y, por lo tanto, los síntomas y signos varían según de la exposición al mercurio elemental, a los compuestos inorgánicos de mercurio, o a los compuestos orgánicos de mercurio. Entre los compuestos orgánicos de mercurio, el metilmercurio ocupa un lugar especial porque mucha población está expuesta a él, y sus efectos tóxicos están mejor caracterizados que los de otros compuestos orgánicos de mercurio. El metilmercurio es un neurotóxico, que puede provocar efectos perjudiciales particularmente en el cerebro en formación, y también provoca enfermedades cardiovasculares (38, 39).

La vía principal de exposición al mercurio elemental es por inhalación de sus vapores. Cerca del 80% de los vapores inhalados es absorbida por los tejidos pulmonares. La absorción intestinal de mercurio elemental es baja. El mercurio elemental puede oxidarse en los tejidos corporales a la forma divalente inorgánica (38, 39).

- **FITOTOXICIDAD INDUCIDA POR EL MERCURIO:**

Efectos generales: La interacción entre el mercurio y los sistemas vegetales tiene una importancia especial, debido a la gran utilización en los desinfectantes de semillas, los fertilizantes y los herbicidas (40).

Los posibles mecanismos de los metales pesados que pueden dañar a la célula comprenden: bloqueo de moléculas importantes (por ejemplo enzimas y polinucleótidos), transporte de iones esenciales, desplazamiento y sustitución por iones metálicos en las moléculas (tales como el manganeso de la clorofila), la desnaturalización o inactivación de proteínas y la perturbación de las membranas celulares y organelos (40).

Con respecto al mercurio el mecanismo posible de su fitotoxicidad puede ser a través del cambio de la permeabilidad de la membrana celular, debido a la elevada afinidad para reaccionar con los grupos sulfhidrilo (SH), la afinidad para reaccionar con los grupos fosfatos y el reemplazo de iones esenciales, y la capacidad del mercurio para perturbar funciones que comprendan proteínas cruciales o no protegidas (40).

La exposición al mercurio también puede reducir la fotosíntesis, la velocidad de transpiración y la incorporación de agua y la síntesis de clorofila, se demostró que tanto el mercurio orgánico como el inorgánico causan la pérdida de potasio, magnesio y manganeso y la acumulación de hierro. Esta disminución explica los cambios de permeabilidad de la membrana celular, al comprometer su integridad

Los efectos tóxicos de las formas de mercurio dependen de la concentración y del tiempo de exposición de las plantas (40).

- **RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LA TOXICIDAD POR METALES PESADOS: ALTERACIONES ESTRUCTURALES, FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS**

A la hora de considerar las acciones fisiológicas hay una serie de puntos clave a tener en cuenta:

- a. Mecanismos de absorción, transporte y acumulación de los metales por la planta**

En la contaminación por metales pesados de muchas plantas acuáticas, la raíz es el principal órgano de absorción. Todavía hay bastante incertidumbre sobre la especificidad de los mecanismos de absorción, sobre todo si se refiere al caso de los elementos no esenciales. No obstante, la interacción con las ATPasas y la modificación de las propiedades de semipermeabilidad de las membranas y del balance iónico se considera que son factores importantes.

En todo caso en la raíz hay un transporte radial que se sugiere que fundamentalmente es apoplástico y que encuentra un primer filtro importante de difusión y de regulación

en la endodermis (41). Ya en la estela, los metales siguen esencialmente la vía del xilema y en sus relaciones con las células vecinas pueden inducir cambios en la pauta de diferenciación del propio sistema vascular hasta que, en concentraciones menores (conforme se ha matizado antes), alcanzan las hojas y alteran fuertemente la estructura y funcionalidad de las células fotosintéticas (42).

b. Mecanismos primarios de su toxicidad a nivel molecular, celular y subcelular

La estructura y propiedades de las células vegetales son muy distintivas, externamente están protegidas por la pared celular que suministra la trama reguladora del crecimiento en extensión y está dotada de sistemas defensivos y metabólicos propios, e interiormente en el estado diferenciado dispone de un gran espacio extracitosólico que limitado por el tonoplasto forma la vacuola. Ambas estructuras, a su vez son básicas para la compartimentación, regulación osmótica celular y los procesos de ajuste osmótico, a su vez los cloroplastos con su activo metabolismo fotoautótrofo y dotación genética, constituyen el orgánulo más distintivo de la biosíntesis celular de las plantas y su verdadero centro metabólico. (42)

Las características de ión metálico con carga y la gran variabilidad de estados de óxido-reducción que muestran muchos metales pesados unidos a su tendencia a formar complejos estables con lígandos orgánicos inducen a pensar que, potencialmente la célula puede presentar numerosos lugares de acción primaria. Las membranas y el núcleo son puntos clave, aunque no debemos olvidar las interacciones sobre la estructura y propiedades de la pared celular. (41, 42)

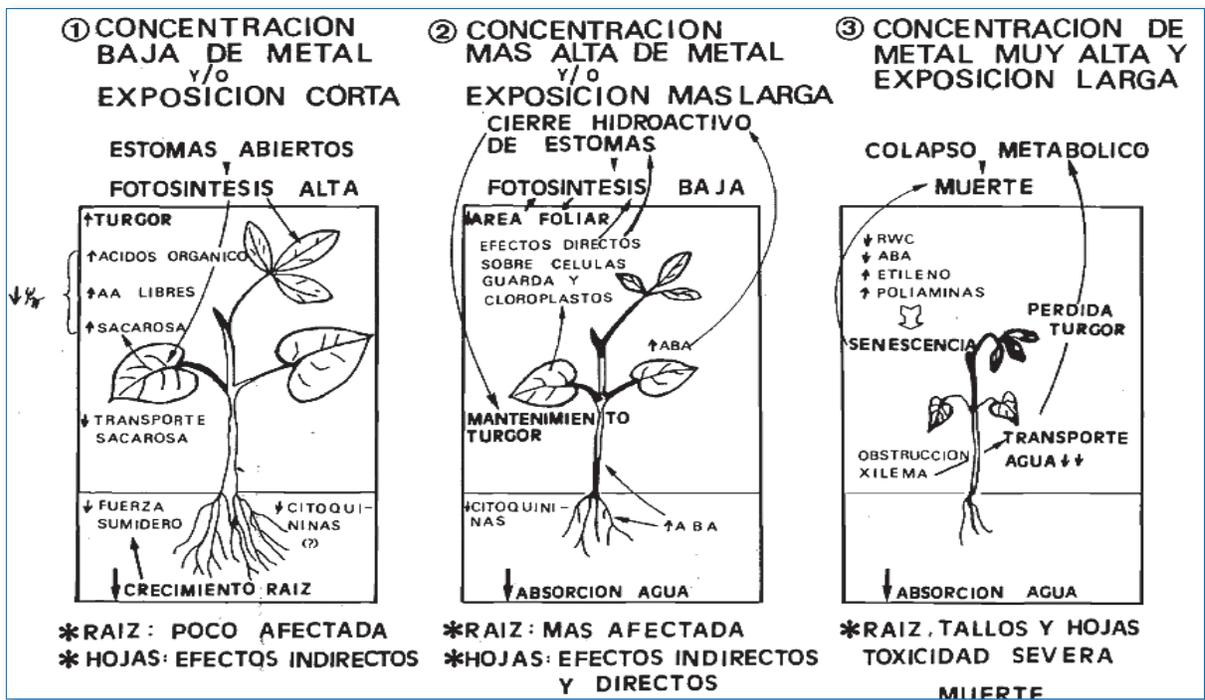
En el plasmalema destaca la interacción con las ATPasas translocadoras de H⁺ y el cambio en el empaquetamiento de los fosfolípidos (43). La pared celular puede incrementar su rigidez a causa probablemente de trastornos enzimáticos en la biosíntesis de constituyentes de la pared, por cambios en el ensamblaje de los polímeros de la pared, por cambio de disposición de los microtúbulos o debido a un aumento de la adhesión celular de la lámina media. Las propiedades elásticas de las paredes celulares pueden verse también modificadas diferencialmente por los diversos metales (44). La acción sobre el núcleo no parece tener igual importancia para todos los tipos de metales y, aunque pueda haber interacción con los ácidos nucleicos e inhibición de la división celular, los efectos sobre las membranas y la pared en ciertos casos parecen ser los más iniciales, mientras que la acción sobre el núcleo frecuentemente puede ser consecuencia del desajuste en las membranas y del desequilibrio en los efectores.

c. Mecanismo de respuesta homeostática

Más allá de un punto o valor crítico de estrés pueden entrar en juego una serie de mecanismos metabólicos y hormonales en las plantas que tienden a contrarrestar la acción distorsionante de la toxicidad. Estos mecanismos homeostáticos son de diversa índole y pueden actuar a nivel celular e intercelular para una mejor integración de las funciones. (45)

En el caso de los metales pesados la toxicidad, que normalmente se inicia en la raíz y que en concentraciones más bajas suele alcanzar a las hojas, se atenúa por mecanismos de compartimentación extracelular o extracitosólica o por mecanismos de secuestro e inactivación en el propio citosol. Muchas de las respuestas enzimáticas, como características del metabolismo de estrés, son también respuestas adaptativas que favorecen una protección inespecífica de los daños celulares causados por la toxicidad. Para el caso de las hormonas también hay indicios de respuestas intercelulares que tienen un valor adaptivo e integrador de las respuestas fotosintéticas y del balance hídrico frente a la toxicidad en la raíz (45). En este sentido también son de destacar las respuestas hormonales diferenciales respecto a metales diferentes. En la ilustración N° 4 se muestra un esquema globalizador de estas diferentes posibilidades para el caso del Cd, tomando como modelo *Phaseolus vulgaris*, una especie sensible a este metal.

Ilustración N° 4: Relaciones hídricas, fotosíntesis y regulación del crecimiento en la planta sensible, *Phaseolus vulgaris*, en función de la concentración de Cd suministrada y el tiempo de exposición.



Fuente: Poschenrieder et al., 1989; Barceló y Creus, 1986 (45)

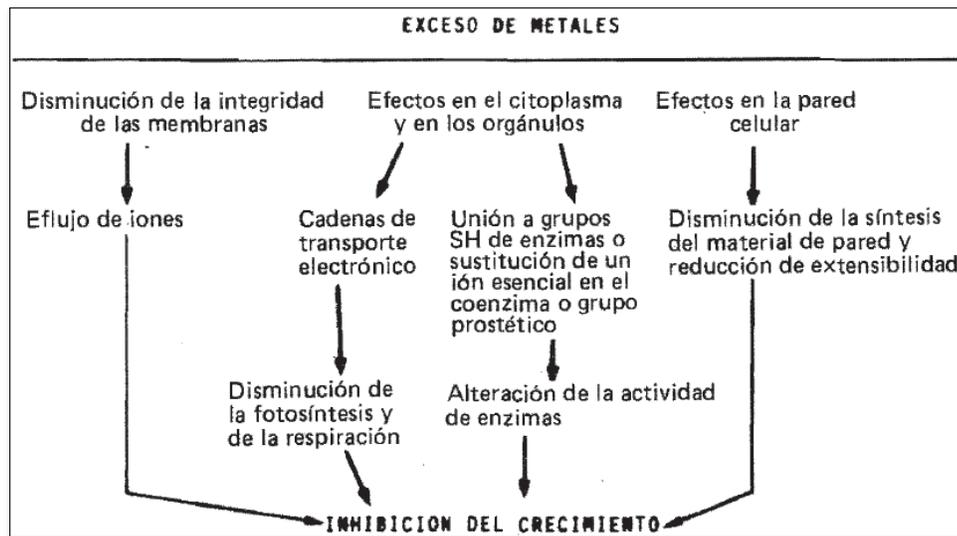
d. Mecanismos secundarios de interferencia con los procesos funcionales de las plantas

En planta entera, los síntomas más visibles de la fitotoxicidad por metales pesados incluyen característicamente una reducción del crecimiento, sobre todo en raíces, clorosis y necrosis en hojas y, posteriormente, síntomas típicos de senescencia y abscisión (45). El síntoma más característico de la toxicidad por metales pesados es la reducción del crecimiento radicular. Dado que las membranas y la pared celular son potencialmente el blanco de acción inicial que sufre cambios en las propiedades de semipermeabilidad y de transporte, en un caso, y de extensibilidad y crecimiento en otro, se comprende la multiplicidad de procesos fisiológicos que secundariamente se verán modificados. En la ilustración N° 5 se recogen algunos de los mecanismos implicados más importantes. Destaca, a nivel celular, la disminución de la integridad de las membranas que causa eflujo de iones sobre todo de K^+ , la disminución de la síntesis del material de la pared celular, reducción de su extensibilidad, efectos sobre el citosol y orgánulos (cloroplastos, especialmente, mitocondrias y aparato de Golgi) (46). De especial interés son las acciones de los metales pesados sobre muchas enzimas que no muestran una única pauta específica de acción (42). Así, mientras que para un grupo clave de enzimas fotosintéticas, los metales inhiben su acción, en otros, relacionados con el metabolismo del estrés, actúan induciendo a la enzima. El primer grupo incluye enzimas de la biosíntesis de clorofilas (ácido o-aminolevulínico deshidratasa, protoclorofilida reductasa), de la cadena de transporte fotosintético de electrones y de la fotofosforilación (fotólisis de agua, NADPH-oxidoreductasa, ATPasa) (45). Se supone que en unos casos el metal interacciona con grupos tiol (-OH) y en otros por sustitución de otros metales específicos para la acción. El segundo grupo, relacionado con el metabolismo del estrés, incluye la superóxido dismutasa para la que los diferentes autores han encontrado resultados distintos, de estímulo o de inhibición, según la forma considerada, y, más característicamente, se ha comprobado inducción enzimática en peroxidasas, esterases y diversos enzimas del metabolismo intermediario (42).

Consecuencia directa de estos cambios estructurales y metabólicos son las variaciones en la regulación del balance de distribución de los asimilados entre los diferentes órganos de las plantas y el fuerte desequilibrio que se crea en el balance de los nutrientes y en sus interacciones. Los desequilibrios entre los distintos elementos minerales, como consecuencia de la acción de los metales pesados,

presentan también una gran diversidad de modelos, con correlaciones tanto sinérgicas como antagónicas, según los elementos (46).

Ilustración N° 5: Efectos tóxicos primarios de metales pesados a nivel de membranas, citoplasma, orgánulos y pared que se relacionan con la disminución del crecimiento.



Fuente: Vázquez et al. 1991 (47)

2.2.5.2.4 EXPOSICIONES MEDIAS ESTIMADAS

La OMS (Organización Mundial de la Salud) estimó las ingestas para las diferentes vías de exposición, sin embargo, las exposiciones varían considerablemente en las poblaciones. A continuación, en la tabla N° 5 se muestran los valores en µg/día de la ingesta diaria promedio estimada de diferentes formas de mercurio en una situación aplicable a la población general no expuesta al mercurio en el lugar de trabajo. (39).

Tabla N° 5: Ingesta diaria promedio de mercurio

Exposición	Compuestos inorgánicos de Hg	Metilmercurio
Alimento		
-Pescado	0.60 ug/día	2.4 ug/día
-Otros alimentos	3.6 ug/día	0 ug/día
Agua potable	0.050 ug/día	0 ug/día

Fuente: Organización mundial de la salud, Mercurio (39)

2.2.5.2.5 EFECTOS DEL MERCURIO SOBRE EL MEDIO AMBIENTE

a) Acumulación de mercurio en las redes alimenticias

Un factor muy importante de los efectos del mercurio en el medio ambiente es su capacidad para acumularse en organismos y ascender por la cadena alimenticia.

Hasta cierto punto, todas las formas de mercurio pueden llegar a acumularse, pero el metilmercurio se absorbe y acumula más que otras formas. El mercurio inorgánico también puede ser absorbido pero por lo general en menores cantidades y con menor eficiencia que el metilmercurio (40).

b) Fuentes de contaminación ambiental

b.1) Origen natural

La mayor fuente natural de mercurio es la desgasificación de la corteza terrestre, las emisiones de los volcanes y la evaporación desde los cuerpos de agua. No obstante, gran parte del mercurio encontrado en la atmósfera y en los ecosistemas hídricos, proviene de actividades antropogénicas (40).

b.2) Fuentes antropogénicas

La contaminación ocasionada por el hombre es realizada de muchas formas: por la descargas de desechos y la emisión directa a la atmósfera en la explotación minera del metal y del oro, la quema de los combustibles fósiles representa una fuente importante de contaminación atmosférica, así como la incineración de desechos sólidos, los cuales incluyen mercurio volatilizado de baterías desechadas y durante la fundición de cobre y zinc. La minería ocasiona el derramamiento directo de grandes cantidades del metal en los ríos y en cuerpos de agua. La amalgama mercurio-oro obtenida es quemada usualmente a campo abierto dejando libre el oro y liberando el tóxico metálico en forma de vapor directamente a la atmósfera (40).

2.2.6 EL AGUA

El agua es uno de los compuestos químicos más importantes para los seres humanos y la vida en general, ya que se encuentra distribuido en todo el planeta. Este cubre aproximadamente el 72 % de la superficie terrestre, y la materia viva incluye altos porcentajes de esta sustancia en su composición, debido a que la requieren para realizar sus funciones (48).

Una característica singular del agua es la de ser única sustancia química que en nuestro planeta se presenta en los tres estados de agregación: sólido, líquido y gaseoso, en estado natural.

2.2.6.1 CONTAMINACIÓN DEL AGUA

De las definiciones de contaminación se debe destacar algunos aspectos fundamentales:

1. Se parte de la calidad o composición natural del agua.
2. Se mide la contaminación en función del uso al que el agua está destinada.
3. Se considera contaminación la provocada de forma directa o indirecta por la actividad humana.

2.2.6.2 CONTAMINANTES DEL AGUA (48)

La clasificación de los contaminantes debido a la naturaleza físico-química, es la siguiente:

- **Agente físico:** Calor.

- **Compuestos químicos inorgánicos:** Sales: aniones y cationes; ácidos y bases; elementos tóxicos: metales, y no metales; elementos radiactivos; gases; especies minerales no disueltas.
- **Compuestos químicos orgánicos:** Hidratos de carbono, aminoácidos, proteínas, aceites y grasas, hidrocarburos, jabones y detergentes, pesticidas, entre otros compuestos.
- **Bionutrientes:** Compuestos nitrogenados y compuestos fosforados.
- **Microorganismos:** Bacterias, virus, hongos y algas. También tenemos algunos contaminantes específicos que son muy usados en la actualidad como los pesticidas y bionutrientes, teniendo en cuenta a los metales, policlorobifenilos (PCBs), dioxinas e hidrocarburos.

2.2.6.3 FUENTES PUNTUALES Y NO PUNTALES DE CONTAMINACIÓN (49)

En relación a los efectos sobre la calidad del agua se debe distinguir las fuentes puntuales como las fábricas, industrias y comercios que vierten sustancias tóxicas en el agua, de las fuentes no puntuales como las emisiones procedentes de vehículos, escorrentía agrícola y urbana que arrastran compuestos orgánicos y metales como se observa en la ilustración N°6, en la actualidad son las que mayor problema causan como se detalla en la tabla N° 6.

Tabla N° 6: Efectos de los distintos tipos de contaminación

PRINCIPALES CATEGORÍAS DE CONTAMINACIÓN		CATEGORÍAS GENERALES DE EFECTOS CAUSADOS			
		Daños a los recursos vivientes	Peligro para la salud humana	Impedimentos para riego en industria	Reducción de los lugares de distracción
Desagüe de aguas residuales domésticas	Microbiana directa	-	xx	-	x
	Microbiana indirecta	-	xx	x	-
	Eutrofización y procesos afines	xx	x	x	xx
Productos de desechos industriales	Metales pesados	x	xx	x	-
	Petroquímica	-	xx	x	-
	Aceites, etc.	-	-	x	xx
	Plaguicidas	x	xx	-	-
	Detergentes	xx	-	-	x
	Calor	xx	-	x	x
Actividad agrícola	Abonos	x	xx	-	-
	Pesticidas	x	xx	-	-

X: Categoría general de efectos más frecuentemente asociados con esta clase de contaminación.
 XX: Categoría más importante de los efectos del tipo concreto de contaminación.

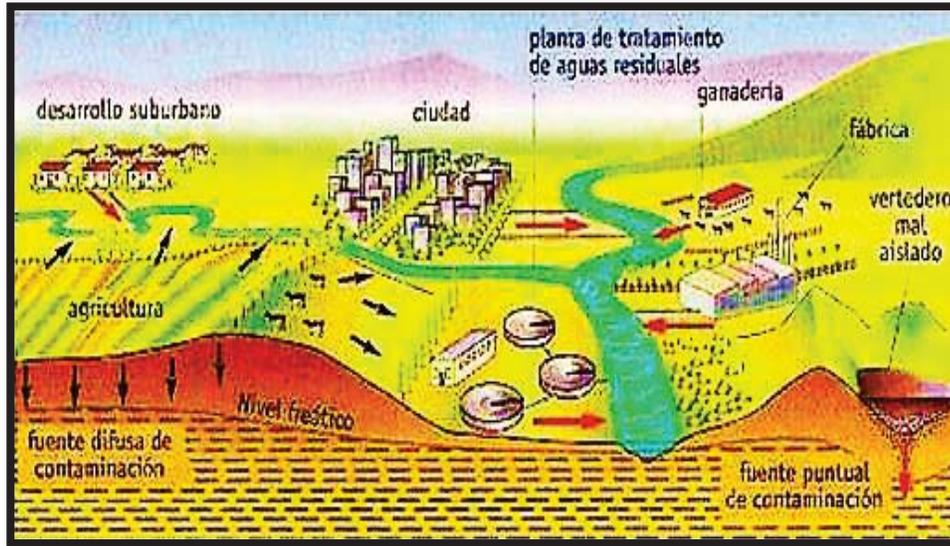
Fuente: Estrada G. Islena, (2010) (49)

La contaminación de los cauces receptores superficiales y subterráneos (ríos, lagos, embalses, acuíferos, mar) tienen su origen en: (49)

- Precipitación atmosférica.
- Escorrentía agrícola y de zonas verdes.

- Escorrentía superficial de zonas urbanizadas.
- Vertidos de aguas procedentes del uso doméstico.
- Descargas de vertidos industriales.

Ilustración N° 6: Fuentes puntuales y difusas de contaminación del agua



Fuente: Estrada G. Islena, (2010) (49)

2.2.7 LA HIDROPONÍA

Es un método utilizado para cultivar plantas usando soluciones minerales en vez de suelo agrícola. La palabra hidroponía proviene del griego, hydro = agua y ponos = trabajo.

Las raíces reciben una solución nutritiva equilibrada disuelta en agua con todos los elementos químicos esenciales para el desarrollo de la planta y pueden crecer en una solución mineral únicamente o bien en un medio inerte como arena lavada, grava o perlita (50).

Los investigadores en fisiología vegetal descubrieron en el siglo XIX que las plantas absorben los minerales esenciales por medio de iones inorgánicos disueltos en el agua. En condiciones naturales, el suelo actúa como reserva de nutrientes minerales pero el suelo en si no es esencial para que la planta crezca. Cuando los nutrientes minerales de la tierra se disuelven en agua, las raíces de la planta son capaces de absorberlos y ya no se requiere el suelo para que la planta prospere. Casi cualquier planta terrestre puede crecer con hidroponía, pero algunas pueden hacerlo mejor que otras (50, 51).

Hoy en día esta actividad está tomando mucho auge en los países donde las condiciones para la agricultura resultan adversas, combinando la hidroponía con un buen manejo de invernadero se llegan a obtener rendimientos muy superiores a los que se obtienen en cultivos a cielo abierto (51).

Es una forma sencilla, limpia y de bajo costo, para producir vegetales de rápido crecimiento y generalmente ricos en elementos nutritivos. Con esta técnica de agricultura a pequeña

escala se utilizan los recursos que las personas tienen a la mano, como materiales de desecho, espacios sin utilizar, tiempo libre.

El cultivo hidropónico requiere del conocimiento en que está fundamentado. Al no usar suelo ya no se cuenta con el efecto amortiguador o buffer que brinda un suelo agrícola. Tiene también diversos problemas con la oxigenación de las raíces y no es algo que pueda llamarse limpio cuando se realiza en escala comercial. Para investigación, demostraciones sobre la esencialidad de ciertos elementos químicos, aún para quien quiera cultivar en un contenedor, una pequeña tina, para cultivar en naves espaciales o para cultivos en gran escala, presentará diversos niveles de complejidad sobre todo si se quiere que sea una actividad económica y tenga bajo impacto ambiental (51).

La clasificación de los cultivos hidropónicos ha evolucionado hacia formas abiertas o cerradas dependiendo de si vuelcan el efluente o reutilizan la solución nutritiva como forma de protección ambiental y una mayor economía en su utilización.

Según el manejo que se le dé a la solución nutritiva, un sistema hidropónico puede ser abierto o cerrado (50, 51).

- Sistema abierto la solución nutritiva que se le aplica a las plantas es justamente la necesaria y el drenaje no es reutilizado. La cantidad que drena es mínima. Aplicándole a la planta solamente lo necesario para el consumo diario evitando así el desperdicio de nutrientes.
- Sistema cerrado la solución nutritiva circula a través del cultivo y es almacenada en un tanque desde el cual puede ser reutilizada. En este caso se utiliza una composición cuidadosamente formulada con el fin de evitar desbalances nutricionales. Esta solución puede ser utilizada indefinidamente siempre y cuando se reponga el agua y los nutrientes que vaya consumiendo la planta y se tengan las debidas consideraciones microbiológicas.

Para tener un buen cultivo hidropónico se debe de tener en cuenta lo siguiente:

1. Solución nutritiva: La planta es como un laboratorio muy complejo que se sostiene y alimenta de la tierra a través de sus raíces, elaborando sus nutrientes en las hojas, ayudada por la luz solar. En el método hidropónico, la planta debe encontrar las mismas condiciones ambientales de la naturaleza, y en lo posible facilitar las reacciones químicas en el interior del tejido vegetal. La germinación, desarrollo, floración, y fructificación de la planta requiere de catorce elementos básicos: (50)

- | | |
|----------|-----------|
| - Azufre | - Carbono |
| - Boro | - Cobre |
| - Calcio | - Fósforo |

- Hidrógeno
- Hierro
- Magnesio
- Manganeso
- Nitrógeno
- Oxígeno
- Potasio
- Zinc

2. Elemento de Sostén (sustrato): Es útil mezclar sustratos buscando el complemento de sus ventajas individuales, teniendo en cuenta los aspectos siguientes: (50)

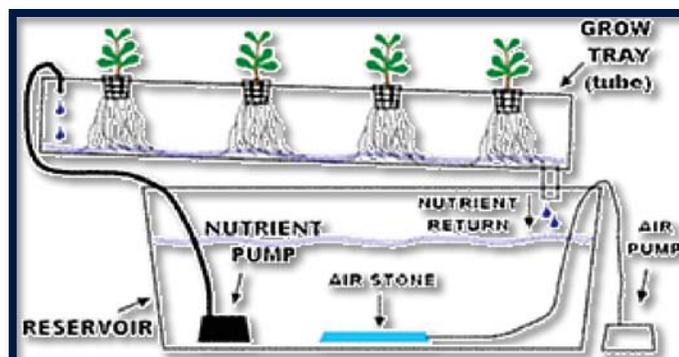
- Retención de humedad
- Permitir buena aireación
- Estable físicamente
- Químicamente inerte
- Biológicamente inerte
- Tener buen drenaje
- Tener capilaridad
- Ser liviano
- Ser de bajo costo
- Estar disponible

Los sustratos más utilizados son los siguientes:

- Cascarilla de arroz
- Arena, grava
- Residuos de hornos y calderas
- Piedra pómez
- Aserrines y virutas
- Ladrillos y tejas molidas (libres de elementos calcáreos o cemento)
- Poliestireno expandido (plumavit) (utilizada casi únicamente para aligerar el peso de otros sustratos.

3. Esquema hidropónico: El esquema consiste en una fuente de agua que impulsa por bombeo agua a través del sistema, recipientes con soluciones madre nutrientes concentrados, cabezales de riego y canales construidos donde están los sustratos, las plantas, los conductos para aplicación del fertiriego y el receptor del efluente (50).

Ilustración N° 7: Esquema de un cultivo hidropónico



Fuente: Barros Patricio- Hidroponía (50)

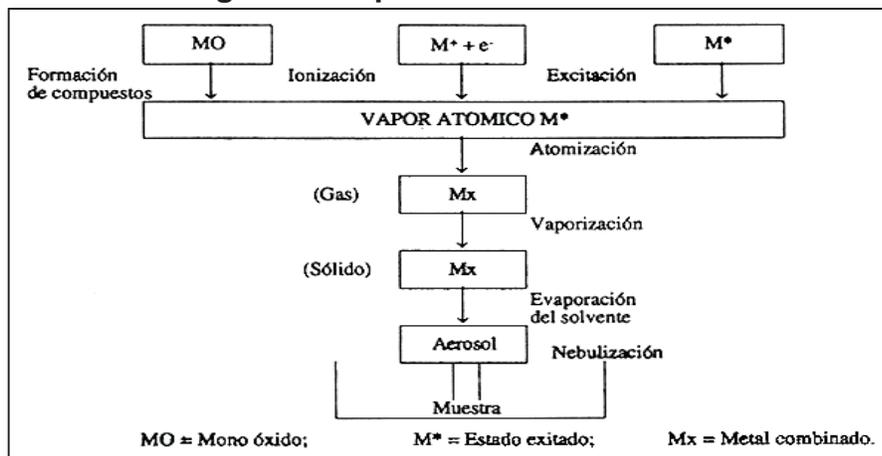
2.2.8 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrofotometría de absorción atómica (AAS), tiene como fundamento la absorción de radiación electromagnética en una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. Los componentes instrumentales de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica son los similares a los de un fotómetro, excepto que en AAS se requiere de una fuente de radiación necesaria para excitar los átomos del analito (52, 53).

Fundamento:

La técnica de absorción atómica en una forma concisa consta de lo siguiente: la muestra en forma líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se disocia y forma un rocío o pequeñas gotas de líquido. Las gotas formadas son conducidas a una flama, donde se produce una serie de eventos que originan la formación de átomos de mercurio. Estos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco de mercurio y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración. La señal de la lámpara una vez que pasa por la flama llega a un monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura (52, 53). En la ilustración N° 8 se observan los procesos que experimenta una solución-muestra con estos sistemas de atomización en la flama.

Ilustración N° 8: Diagrama del proceso de atomización en una flama



Fuente: Razmilic B. - Espectroscopía de absorción atómica, 2015. (54)

Técnica de la ditizona

Cuando es cuestión de aislar mercurio de una solución conteniendo sólo una parte pequeña de metales pesados tales como: mercurio, cadmio, cobre, plata, zinc, etc. La ditizona es un reactivo de elección, porque al combinarse la ditizona y el mercurio forma el complejo ditizonato de mercurio, el cual puede ser extraído con una solución de ditizona-cloroformo de una solución acuosa 1 y 2 N en solución de hidróxido de sodio (55).

- **Fundamento del método ditizona**

Este método se basa en la reacción del mercurio presente en el agua con la ditizona para dar un complejo ditizonato mercúrico de color naranja a rojo, el cual se extrae con cloroformo, en un medio básico, cuya intensidad se cuantifica colorimétricamente a una longitud de onda de 253.7 nm (56).

Reacción:



2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Fitorremediación:** Es la descontaminación de los suelos, la depuración de las aguas residuales o la limpieza del aire interior, usando plantas vasculares, algas (fitorremediación) u hongos (micorremediación), y por extensión ecosistemas que contienen esas plantas (21).
- **Aguas residuales:** Son aquellas aguas cuyas características originales han sido modificadas por actividades humanas y que por su calidad requieren un tratamiento previo, antes de ser reusadas, vertidas a un cuerpo natural de agua o descargadas al sistema de alcantarillado (26).
- **Bioacumulación (Inclusión y acumulación):** Comprende la captura en el interior de las células donde no tiene efectos tóxicos como en la vacuola y la pared celular; destoxificación interna de los metales a través de la incorporación de proteínas, ácidos orgánicos, histidina y péptidos ricos en grupos tiol denominados fitoquelatinas (22).
- **Humedal artificial:** Técnica donde las plantas actúan como trampas o filtros biológicos, que descomponen los contaminantes y estabilizan las sustancias metálicas presentes en el suelo y el agua al fijarlos en sus raíces y tallo para finalmente convertirlos en menos peligrosos y más estables (49).
- **Metales pesados:** Se considera metal pesado a aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a 5g/cm³ cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su

presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01% junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos que aunque son metales ligeros o no metales se suelen englobar con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es este el caso del As, B, Ba y Se (34).

- **Mercurio:** Elemento químico de número atómico 80, es un metal líquido a temperatura ordinaria, de color blanco plateado, brillante y denso, que se encuentra en la naturaleza en estado puro o combinado con plata, o en forma de sulfuro en el cinabrio; se usa principalmente en termómetros y barómetros, y también en aleaciones llamadas amalgamas (35).
- **Macrófitas acuáticas:** El término macrófita acuática, se refiere a las formas macroscópicas de vegetación acuática y comprende las macro algas, las escasas especies de pteridofitos y las verdaderas angiospermas (9).
- **Plantas flotantes:** Se distinguen por la habilidad para derivar el dióxido de carbono y las necesidades de oxígeno de la atmósfera directamente. Las plantas reciben sus nutrientes y minerales desde el agua. (9)
- **Senescencia:** Envejecimiento de la especie por alteración de los órganos que tienen una acumulación crónica de metales pesados. (57)
- **Análisis proximal:** Los análisis comprendidos dentro de este grupo, también conocido como análisis proximales Weende, nos indicarán el contenido de humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza y extracto libre de nitrógeno en la muestra (59).
- **Espectrofotómetro:** Equipo usado en el análisis químico que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra (52).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 MATERIALES BIOLÓGICOS

Especies vegetales en la etapa vegetativa

- *Nasturtium officinale* (Berro)
- *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

3.1.2 MATERIALES DE LABORATORIO:

- | | |
|--|----------------------------------|
| - Tubos de ensayo de 5, 10 y 20 mL marca Pírex | - Portaobjetos |
| - Vasos de precipitados de 25, 50 y 200 mL marca Pírex | - Cubreobjetos |
| - Fiolas de 25, 50 y 100 ml marca Pírex | - Crisoles de porcelana |
| - Probeta de 100 mL marca Pírex | - Vasos cónicos marca Pírex |
| - Baguetas marca Pírex | - Gradillas para tubos de ensayo |
| - Balón de aforo de 1 L marca Pírex | - Soporte universal |
| - Peras de decantación de 500mL marca Pírex | - Pinzas para tubos de ensayo |
| - Embudos Buchner | - Cucharillas de metal |
| - Matraz Erlenmeyer marca Pírex | - Frascos gotero |
| - Placas Petri | - Gomas de succión |
| | - Cocinilla eléctrica |
| | - Equipo Socklet |
| | - Equipo de destilación Kjeldalh |
| | - Digestor |
| | - Mortero |
| | - Papel filtro |

3.1.3 REACTIVOS

- | | |
|---|---|
| - Sulfato de mercurio (II) | - Cloroformo QP |
| - Agua destilada | - Solución de ácido sulfúrico 1.25 % |
| - Solución de ácido sulfúrico QP (c) | - Solución de hidróxido de sodio 1.25 % |
| - Solución de hidróxido de sodio QP (c) | - Solución de ácido sulfúrico 2% |
| - Solución de ácido nítrico (c) | - Solución de hidróxido de sodio 45 % |
| - Permanganato de potasio | |
| - Clorhidrato de hidroxilamina 5% | |
| - Ditizona 0.002 % | |

- Solución de hidróxido de sodio 0.1 N
- Solución de ácido bórico 2.5 %
- Indicador mixto (rojo de metilo-verde de bromocresol)
- Hexano QP
- Mezcla oxidante (SeO₂)
- Benceno QP
- Zafranina
- Fast green
- Alcohol absoluto
- Alcohol de 70, 90 y 96 %
- Solución de ácido acético glacial
- Formaldehido

3.1.4 EQUIPOS E INSTRUMENTOS

- Espectrofotómetro de absorción atómica marca Karl Zeiss Jena modelo AAS1N
- Microscopio compuesto marca LEICA modelo 13613532
- Baño María marca GEMMYCO modelo YCW- 010 E
- Micrótopo marca LEICA modelo RM2125 RTS
- Estufa marca MEMMERT modelo NP 500
- Esteroscopio Marca LEICA
- Balanza analítica marca ACCURIS modelo W3100A – 210
- Balanza de precisión marca ACCURIS modelo W 3200.500
- Campana de extracción marca ESCO Laboratory Isocide modelo EFD-4B3
- pHmetro acuático marca HITECH modelo PH009(III)
- Termohigrómetro marca BOECO Germany
- Mufla marca BARNSTEAD Thermolyne

3.1.5 MATERIALES DE CAMPO

- Libreta de campo
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de apuntes
- Lapiceros
- Etiquetas
- Plumones de tinta indeleble.
- Lavadores de plástico
- Frasco de 30 ml de alcohol en gel

3.1.6 MATERIALES DE ESCRITORIO

- Computadora marca HP
- Bibliografía especializada
- Papel bond A4

3.1.7 SOFTWARE PARA EL TRABAJO

- Microsoft office 2015
- SPSS versión 21 en español

3.1.8 OTROS

- Solución nutritiva hidropónica
“La Molina”
- Parafina
- Ovoalbúmina
- Pinzas metálicas
- Táperes de 5 L de capacidad
- 2 Tubos de PVC de 1 pulgada.
- 6 Tubos de PVC de 3 pulgadas
- Papel Kraft
- Teflón
- Aplicador de silicona
- Silicona
- Guantes estériles
- Frascos de plástico de 100 mL
- Guardapolvo de laboratorio
- Lavadores y baldes de plástico de 5 L
- Recipientes de plástico de 4 L
- 12 Listones de madera
- Plástico para invernadero
- Mini bomba de agua
- Pernos de 3 pulgadas
- Clavos de 3 pulgadas
- Manguerillas

➤ LUGAR DE EJECUCIÓN DEL TRABAJO

- El cultivo hidropónico se llevó a cabo en un gabinete adecuado para la adaptación de las especies vegetales, ubicado en la Av. Manco Cápac N° 201 del distrito de San Jerónimo – Cusco.
- La etapa de contaminación con mercurio y preparación de reactivos se realizó en el laboratorio MCQUIMICALAB ubicado en el COVIDUC-San Sebastián.
- El procesamiento y lectura de las muestras se realizó en el laboratorio de la Escuela Profesional de Ingeniería Química de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
- El análisis proximal de las especies vegetales y preparación de reactivos se realizó en el laboratorio de Química de la Escuela Profesional de Química de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
- El análisis de la morfología interna y externa de las especies vegetales se realizó en el laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.

3.2 DISEÑO METODOLÓGICO

3.2.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño es cuasiexperimental porque las especies vegetales del estudio no han sido asignadas al azar y permite establecer la relación de causa-efecto de la variable independiente: “Contaminación con mercurio a diferentes concentraciones”, con la variable dependiente “Capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo).

El estudio es de tipo correlacional porque se va analizar el grado de relación que existe entre la variable independiente: “Contaminación con mercurio a diferentes concentraciones”, con la variable dependiente “Capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo). Este diseño está establecido con repetición del estímulo.

3.2.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

DISEÑO CUASIEXPERIMENTAL (DISEÑO EXPERIMENTAL DE SERIES CRONOLÓGICAS CON REPETICIÓN DEL ESTÍMULO)

Para evaluar la capacidad fitorremediadora de *Nasturtium officinale* (Berro) en relación al contaminante mercurio.

G ₁	- O ₁		
G ₂	X ₁ O ₂	X ₁ O ₃	X ₁ O ₄
G ₃	X ₂ O ₅	X ₂ O ₆	X ₂ O ₇
G ₄	X ₃ O ₈	X ₃ O ₉	X ₃ O ₁₀
G ₅	X ₄ O ₁₁	X ₄ O ₁₂	X ₄ O ₁₃
G ₆	X ₅ O ₁₄	X ₅ O ₁₅	X ₅ O ₁₆

DONDE:

G: Grupos de experimentación

O: Medición de la concentración del metal disuelto.

(-) Ausencia de estímulo (nivel cero en la variable independiente). Indica que se trata de un grupo control.

EXPERIMENTACIÓN:

Prueba de la capacidad fitorremediadora de *Nasturtium officinale* (Berro) en relación al contaminante mercurio.

G₁: Grupo control

G₂ – G₆: Grupos de tratamiento con *Nasturtium officinale* (Berro)

X₁: Concentración de mercurio a 0.1 ppm

X₂: Concentración de mercurio a 0.5 ppm

X₃: Concentración de mercurio a 1.0 ppm

X₄: Concentración de mercurio a 2.0 ppm

X₅: Concentración de mercurio a 5.0 ppm

O₁ – O₁₆: Medición de concentración de mercurio en raíz y parte aérea (tallo y hojas).

Para evaluar la capacidad fitorremediadora de *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) en relación al contaminante mercurio

G ₁	-	O ₁				
G ₂	X ₁	O ₂	X ₁	O ₃	X ₁	O ₄
G ₃	X ₂	O ₅	X ₂	O ₆	X ₂	O ₇
G ₄	X ₃	O ₈	X ₃	O ₉	X ₃	O ₁₀
G ₅	X ₄	O ₁₁	X ₄	O ₁₂	X ₄	O ₁₃
G ₆	X ₅	O ₁₄	X ₅	O ₁₅	X ₅	O ₁₆

EXPERIMENTACIÓN:

Prueba de la capacidad fitorremediadora de *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) en relación al contaminante mercurio

G₁: Grupo control

G₁ – G₆: Grupos de tratamiento con *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

X₁: Concentración de mercurio a 0.1 ppm

X₂: Concentración de mercurio a 0.5 ppm

X₃: Concentración de mercurio a 1.0 ppm

X₄: Concentración de mercurio a 2.0 ppm

X₅: Concentración de mercurio a 5.0 ppm

O₁ – O₁₆: Medición de concentración de mercurio en raíz y parte aérea (tallo y hojas).

3.2.3 VARIABLES: DEFINICIÓN OPERACIONAL Y CONCEPTUAL

- VARIABLE INDEPENDIENTE

CONTAMINACIÓN CON MERCURIO A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Definición conceptual: Es la introducción de algún tipo de sustancia o energía (mercurio) en un medio que provocará que este sea inseguro o no apto para su uso (32).

Indicadores:

- **Contaminación con mercurio antes del tratamiento**

- **Definición conceptual:** Es la concentración inicial de mercurio en el agua antes del tratamiento con las especies vegetales.
- **Definición operacional:** Antes de proceder a la etapa de contaminación se cuantificó la concentración inicial de mercurio de las soluciones preparadas a partir de sulfato de mercurio (II).
- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Razón
- **Instrumento:** Espectrofotometría de absorción atómica
- **Expresión final de la variable:**
 - 0.1 ppm de mercurio
 - 0.5 ppm de mercurio
 - 1.0 ppm de mercurio
 - 2.0 ppm de mercurio
 - 5.0 ppm de mercurio

- **Contaminación con mercurio después del tratamiento**

- **Definición conceptual:** Es la concentración final de mercurio en agua después del tratamiento con las especies vegetales.
- **Definición operacional:** Después de los 15 días de tratamiento con las especies vegetales se procedió a cuantificar la concentración final de mercurio en agua.
- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Razón
- **Instrumento:** Espectrofotometría de absorción atómica
- **Expresión final de la variable:** ppm de mercurio

- **Concentración de mercurio en la especie vegetal**

Definición conceptual: Es la concentración de mercurio acumulada por la especie vegetal en raíz y parte aérea.

- **Definición operacional:** Después de los 15 días de contaminación se procedió a cuantificar la concentración de mercurio en la especie vegetal tanto en raíz como en parte aérea.
- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Razón
- **Instrumento:** Espectrofotometría de absorción atómica
- **Expresión final de la variable:** ppm de mercurio

- **VARIABLES DEPENDIENTES**

CAPACIDAD FITORREMIADORA DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

Definición conceptual: Es la capacidad que tienen la especies vegetales para remediar in situ suelos, sedimentos, aguas y aire contaminados por desechos orgánicos, nutrientes o metales pesados, eliminando los contaminantes del ambiente o haciéndolos inocuos (21).

Indicadores:

• **Factor de bioacumulación (BAF):**

- **Definición conceptual:** Es el factor que indica si la especie vegetal posee o no capacidad fitorremediadora en relación a mercurio (22).
- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Espectrofotometría de absorción atómica
- **Expresión final de la variable:**
 - ≥ 1000 mg/L (Hiperacumuladoras)
 - < 1000 mg/L (Tolerantes)
 - < 100 mg/L (Excluseras)

• **Factor de Traslocación (FT)**

- **Definición conceptual:** Es el factor que indica el paso del mercurio de la raíz a la parte aérea (22).
- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Ordinal
- **Instrumento:** Cálculo

- **Expresión final de la variable:**

- ≥ 1 mg/L (Hiperacumuladoras)
- < 1 mg/L (Tolerantes)
- < 0.1 mg/L (Excluseras)

- **VARIABLES INTERVINIENTES:**

a) Descripción morfológica externa

Definición conceptual: Son todas aquellas características externas que pueden ser descritas a simple vista (60).

Indicadores:

• **Morfometría**

- **Definición conceptual:** Es el análisis cuantitativo (medición) del tamaño y forma de las especies vegetales *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle rranunculoides* (60).

- **Definición operacional:** Se realizó después de la contaminación con mercurio, haciendo uso del vernier y la observación directa de raíz, tallos y hojas.

- **Naturaleza:** Cuantitativa

- **Medición:** Directa

- **Escala:** Razón

- **Instrumento:** Vernier

- **Expresión final de la variable:**

- Longitud del tallo en cm

- Diámetro del tallo en cm

- Longitud de la raíz en cm

• **Talla de la planta**

- **Definición conceptual:** Es el análisis cuantitativo (medición) del tamaño y forma de las especies vegetales *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle rranunculoides* (60).

- **Definición operacional:** Se realizó después de la contaminación con mercurio, haciendo uso del vernier y la observación directa de raíz, tallos y hojas.

- **Naturaleza:** Cuantitativa

- **Medición:** Directa

- **Escala:** Razón

- **Instrumento:** Vernier

- **Expresión final de la variable:** cm

- **Clorosis**

- **Definición conceptual:** La clorosis en estas especies vegetales se debe por efecto del mercurio en el proceso de fotosíntesis, esto ocurre porque este metal produce alteraciones en los cloroplastos y disminución en la tasa fotosintética (61).
- **Definición operacional:** Después de la contaminación con mercurio se evaluó el grado de clorosis en hojas.
- **Naturaleza:** Cualitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Nominal
- **Instrumento:** Observación
- **Expresión final de la variable:**
 - Ausencia de clorosis
 - Leve
 - Moderada
 - Alta

- **Necrosis**

- **Definición conceptual:** La necrosis se debe a que el mercurio produce intensos cambios metabólicos y regulación celular, provocando finalmente la muerte de las especies vegetales (61).
- **Definición operacional:** Después de la contaminación con mercurio se evaluó el grado de necrosis en raíz, tallo y hojas.
- **Naturaleza:** Cualitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Nominal
- **Instrumento:** Observación
- **Expresión final de la variable:**
 - Ausencia de necrosis
 - Leve
 - Moderada
 - Alta

b) Descripción morfológica interna

Definición conceptual: Son todas aquellas características internas que sólo pueden ser descritas con el apoyo de microscopios, previo cortes anatómicos (60).

Definición operacional: Observar en el microscopio la histología vegetal antes y después de la intoxicación con los metales.

- **Naturaleza:** Cualitativa
- **Medición:** Directa
- **Escala:** Nominal
- **Instrumento:** Microscopio

- **Expresión final de la variable:** Presencia o ausencia de alteraciones en la pared celular e índice estomático.

c) Análisis proximal

Definición conceptual: Es el estudio completo de la especie vegetal que incluye humedad, fibra, proteínas, lípidos cenizas y carbohidratos (62).

Definición operacional: Se realiza mediante diferentes métodos como la gravimetría y el método Kjeldahl.

Indicadores

- **Porcentaje de humedad (Método gravimétrico)**

Definición conceptual: Contenido de agua en la especie vegetal, parámetro clave para determinar estrés hídrico. (63)

- **Naturaleza:** Cuantitativa

- **Medición:** Directa

- **Escala:** Razón

- **Instrumento:** Balanza analítica

- **Expresión final de la variable:** % de humedad

• **Porcentaje de fibra total (Método gravimétrico)**

Definición conceptual: Es el porcentaje de cantidades variables de celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina, que forman la pared celular de las especies vegetales. (63)

- **Naturaleza:** Cuantitativa

- **Medición:** Directa

- **Escala:** Razón

- **Instrumento:** Balanza analítica

- **Expresión final de la variable:** % de fibra total

• **Porcentaje de proteína total (Método Kjeldahl)**

Definición conceptual: Hace referencia a la cantidad de proteína total presente en la especie vegetal, en la cual es al menos el 50% del peso seco de las células vivas y son fundamentales en aspectos de estructura y función celular. (63)

- **Naturaleza:** Cuantitativa

- **Medición:** Directa

- **Escala:** Razón

- **Instrumento:** Balanza analítica

- **Expresión final de la variable:** % de proteínas totales

- **Porcentaje de cenizas totales (Método gravimétrico por calcinación)**
Definición conceptual: Se refiere al residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica; representan el contenido mineral, es decir el conjunto de nutrientes elementales que están presentes en determinada muestra. (63)
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Instrumento:** Balanza analítica
 - **Expresión final de la variable:** % de cenizas totales
- **Porcentaje de grasas totales (Método gravimétrico, extracción con Socklet)**
Definición conceptual: Se refiere al porcentaje total de grasa presente en la especie vegetal. (63)
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Expresión final de la variable:** % de grasas totales
- **Porcentaje de carbohidratos (Cálculo por diferencia)**
Definición conceptual: Es la cantidad total de carbohidratos que fabrican las especies vegetales a partir de la fotosíntesis, las cuales proporcionan energía y fibra. (63)
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Instrumento:** Cálculo
 - **Expresión final de la variable:** % de carbohidratos.

3.2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES
Tabla N° 7: Variables

VARIABLES	INDICADORES	NATURALEZA	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
Implicadas							
Variable Independiente							
Contaminación con mercurio a diferentes concentraciones	Contaminación con mercurio antes del tratamiento	Cuantitativa	Directa	Razón	Antes de proceder a la etapa de contaminación se cuantificó la concentración inicial de Hg ²⁺ de las soluciones preparadas a partir de sulfato de mercurio (II).	Espectrofotómetro de absorción atómica	- 0.1 ppm de mercurio - 0.5 ppm de mercurio - 1.0 ppm de mercurio - 2.0 ppm de mercurio - 5.0 ppm de mercurio
	Contaminación con mercurio después del tratamiento	Cuantitativa	Directa	Razón	Después de los 15 días de tratamiento con las especies vegetales se procedió a cuantificar la concentración final de Hg ²⁺ en agua.	Espectrofotómetro de absorción atómica	- ppm de mercurio
	Concentración de mercurio en la especie vegetal	Cuantitativa	Directa	Razón	Después de los 15 días de contaminación se procedió a cuantificar la concentración de Hg ²⁺ en la especie vegetal tanto en raíz como en parte aérea.	Espectrofotómetro de absorción atómica	- ppm de mercurio
Variables Dependientes							
Capacidad fitorremediadora de las especies vegetales <i>Nasturtium officinale</i> (Berro) e <i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)	Factor de bioacumulación (BAF)	Cuantitativa	Directa	Ordinal	Se halla dividiendo la concentración de mercurio en planta sobre la concentración inicial de mercurio en agua.	Cálculo	- ≥ 1000 mg/L (Hiperacumuladoras) - < 1000 mg/L (Tolerantes) - < 100 (Excluidoras)
	Factor de translocación (FT)	Cuantitativa	Directa	Ordinal	Se halla por relación de la concentración de mercurio en raíz sobre la concentración de mercurio en parte aérea.	Cálculo	- ≥ 1 mg/L (Hiperacumuladoras) - < 1 mg/L (Tolerantes) - < 0.1 mg/L (Excluidoras)

Variables intervinientes										
Descripción morfológica externa	Morfometría	Cuantitativa	Directa		Razón	Se realizó después de la contaminación con mercurio, haciendo uso del vernier y la observación directa de raíz, tallos y hojas.	Vernier	- Longitud del tallo en cm - Diámetro del tallo en cm - Longitud de la raíz en cm - Longitud de hoja en cm - Ancho de hojas en cm		
	Talla de la planta	Cuantitativa	Directa		Razón	Se realizó después de la contaminación con mercurio, haciendo uso del vernier y la observación directa de raíz, tallos y hojas.	Vernier	- cm		
Descripción morfológica interna	Clorosis	Cualitativa	Directa		Nominal	Después de la contaminación con Hg ²⁺ se evaluó el grado de clorosis en hojas.	Observación	- Ausencia de clorosis - Leve - Moderada - Alta		
	Necrosis	Cualitativa	Directa		Nominal	Después de la contaminación con Hg ²⁺ se evaluó el grado de necrosis en raíz, tallo y hojas.	Observación	- Ausencia de necrosis - Leve - Moderada - Alta		
		Cualitativa	Directa		Nominal	Observar en el microscopio la histología vegetal antes y después de la contaminación.	Microscopio	Presencia /ausencia de alteraciones en la pared celular e índice estomático.		
	Porcentaje de Humedad	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene por el método gravimétrico.	Balanza analítica	% de humedad		
Análisis proximal	Porcentaje de Fibra	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene por el método gravimétrico de hidrólisis ácida y alcalina.	Balanza analítica	% de fibra		
	Porcentaje de Proteínas	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene por el método Kejeldahl.	Balanza analítica	% de proteínas		
	Porcentaje de Cenizas	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene por el método gravimétrico, por calcinación AOAC.	Balanza analítica	% de cenizas		
	Porcentaje de Grasas	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene por el método gravimétrico, extracción con Soxhlet AOAC.	Balanza analítica	% de lípidos		
	Porcentaje de Carbohidratos	Cuantitativa	Directa		Razón	Se obtiene de la diferencia de 100 menos la suma de los porcentajes de la humedad, fibra, proteínas, cenizas y lípidos.	Cálculo diferencial	% carbohidratos		

3.2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

***Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*.**

3.2.5.1 Criterio de inclusión

- Especies vegetales acuáticas macrófitas.
- Que tengan una buena pigmentación (coloración verdosa).
- Que no presenten ninguna anomalía en cualquiera de sus partes (hojas y tallos que presenten clorosis, cortes, hojas roídas por insectos, necrosis).
- Plantas jóvenes (etapa vegetativa).
- Especies con un buen espesor radicular.

3.2.5.2 Criterios de exclusión

- Especies vegetales con clorosis en hojas
- Especies vegetales con necrosis en raíz, tallo u hojas.

3.3 PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO Y MÉTODOS

3.3.1 FASE DE RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

***Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)**

Del riachuelo de K'ayra, distrito de San Jerónimo - Cusco se recolectaron las especies vegetales a ser utilizadas en la contaminación con mercurio, así como para su identificación taxonómica en el Herbario Vargas.

Éstas se recolectaron en el mes de setiembre del año 2016.

Luego se las trasladó en lavadores al lugar del cultivo, para luego colocarlas en el sistema hidropónico. (ANEXO VI)

3.3.2 FASE DE ADAPTACIÓN Y NUTRICIÓN (CULTIVO HIDROPÓNICO)

Esta fase tuvo un periodo de 45 días, para la cual se utilizó agua declorada y una solución hidropónica. Esta fase se realizó con la finalidad de obtener nuevos brotes que estén libres de trazas de contaminantes del lugar de recolección.

Durante este proceso de investigación se controló pH del agua, esto se realizó para dar un medio óptimo durante el desarrollo de las plantas, debido a que un pH ácido provoca necrosis. También se midió la temperatura y humedad diariamente (ANEXO IV).

- NUTRICIÓN

La nutrición se dio durante todo el proceso de adaptación (cultivo hidropónico), en la que se utilizó el fertilizante llamado solución hidropónica "La Molina", el cual presenta los siguientes nutrientes indispensables para el buen desarrollo de las macrófitas acuáticas que se muestra en la tabla N° 8.

Tabla N° 8: Composición química de la solución hidropónica A y B

Composición	Concentración
K	210 ppm
N	190 ppm
Ca*	150 ppm
S*	70 ppm
Mg*	45 ppm
P	35 ppm
Fe	1.00 ppm
Mn	0.50 ppm
B*	0.50 ppm
Zn	0.15 ppm
Cu	0.10 ppm
Mo	0.05 ppm
1 ppm (una parte por millón) = 1 mg/litro	
*Incluye las cantidades que aporta el agua	

Fuente: Universidad Nacional Agraria La Molina (64)

- **PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA**

Se agitaron previamente las soluciones concentradas A y B.

Para preparar 50 L de solución nutritiva, se añadió 250 mL de la solución concentrada A y 100 mL de la solución concentrada B. (Se utilizó 25 L de solución nutritiva para *N. officinale* y 25 L para *H. ranunculoides* (41). (ANEXO VII)

- **Aplicación del nutriente**

Se aplicó por recirculación según el esquema de cultivo hidropónico. (ANEXO VI)

3.3.3 FASE DE CONTAMINACIÓN DEL AGUA CON MERCURIO

Después de la fase de adaptación que duró 45 días, se trasladaron a las especies vegetales en recipientes de plástico al laboratorio MCQUIMICALAB, ubicado en COVIDUC – San Sebastián, para llevar a cabo la fase de contaminación que tuvo una duración de 15 días, para lo cual se procedió a:

a) SELECCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*

Para la selección se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

- Etapa de vida (vegetativa), porque es la etapa en la cual la planta tiene intensa asimilación y buena acumulación de reservas (60).
- Talla de la planta: 22 – 23 cm para *N. officinale* y de 13 – 14 cm para *H. ranunculoides*
- Peso de la planta: 7 - 8 g para *N. officinale* y de 12 – 13 g para *H. ranunculoides*
- Clorosis: Se seleccionaron plantas con buena pigmentación foliar (verdosa).
- Necrosis: Se seleccionaron plantas sin ninguna anomalía.

Todos estos parámetros fueron tomados en cuenta para homogeneizar nuestras muestras y así obtener resultados estandarizados (57).

b) PREPARACIÓN DEL CONTAMINANTE MERCURIO

Se preparó el contaminante a concentraciones de: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 y 5.0 ppm, para 3 L de agua a partir de una solución madre de 500 ppm de Hg^{2+} preparada con sulfato de mercurio (II), con 3 repeticiones para cada concentración.

EL cálculo para cada concentración se realizó de la siguiente manera:

Preparación de la solución madre: (59)

- Para la preparación de la solución madre se tuvo que pesar el sulfato de mercurio (II), basándose en la relación que existe entre los componentes de la fórmula. Se tomó en cuenta el peso del mercurio de acuerdo a la cantidad de disolución que necesitábamos por cada litro de agua.

$$\begin{array}{r} 0296.67 \dots\dots\dots 200.59 \\ X \dots\dots\dots 500 \text{ ppm} \\ X=0.739 \text{ g de HgSO}_4 \end{array}$$

Donde:

- **PM Hg:** 200.59
- **PM HgSO₄:** 296.67

- Se procedió a pesar en la balanza analítica la cantidad de mercurio resultante del cálculo mencionado anteriormente.
- Luego en un balón de aforo de un litro de capacidad, se colocó la solución, y se procedió a aforar.
- Finalmente se prepararon las concentraciones de mercurio a partir de la solución madre con la siguiente fórmula: (59)

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

- **Para la concentración 0.1 ppm:**
 $V_1C_1 = V_2C_2$
 $V_1 \times 500 \text{ ppm} = 3000 \text{ mL} \times 1.0 \text{ ppm}$
 $V_1 = 6 \text{ mL}$
- **Para la concentración 0.5 ppm:**
 $V_1C_1 = V_2C_2$
 $V_1 \times 500 \text{ ppm} = 3000 \text{ mL} \times 0.5 \text{ ppm}$
 $V_1 = 3 \text{ mL}$
- **Para la concentración 1.0 ppm:**
 $V_1C_1 = V_2C_2$
 $V_1 \times 500 \text{ ppm} = 3000 \text{ mL} \times 1.0 \text{ ppm}$
 $V_1 = 6 \text{ mL}$
- **Para la concentración 2.0 ppm:**
 $V_1C_1 = V_2C_2$
 $V_1 \times 500 \text{ ppm} = 3000 \text{ mL} \times 2.0 \text{ ppm}$
 $V_1 = 12 \text{ mL}$
- **Para la concentración 5.0 ppm:**
 $V_1C_1 = V_2C_2$
 $V_1 \times 500 \text{ ppm} = 3000 \text{ mL} \times 5.0 \text{ ppm}$
 $V_1 = 30 \text{ mL}$

- Estas concentraciones se tomaron como referencia de la tesis: “Efectos del mercurio sobre algunas plantas acuáticas tropicales” de Posada M. (25), en la que realizó los ensayos preliminares para evaluar si las concentraciones del metal elegidas inicialmente son las correctas para un ensayo de este tipo, puesto que la concentración uno (C1) debe ser tal que casi ningún organismo se afecte, y la última concentración (C4) sea tal que casi todos los organismos se vean afectados y refiere que a concentraciones de 0.01 a 0.1 ppm de mercurio el crecimiento de *Lemma minor* no es alterada, mientras que a concentraciones de 1.0 a 10 ppm, la población es afectada por la presencia de este metal.

Para nuestro estudio las concentraciones serían:

C1: Concentraciones 0.1 y 0.5 ppm Hg^{2+}

C2: Concentración de 5.0 ppm de Hg^{2+}

No se tomaron concentraciones mayores a 5.0 ppm Hg^{2+} , debido a que en la naturaleza según informes técnicos de la OEFA el valor máximo encontrado fue de 1.9 mg/L en sedimentos (85).

c) DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

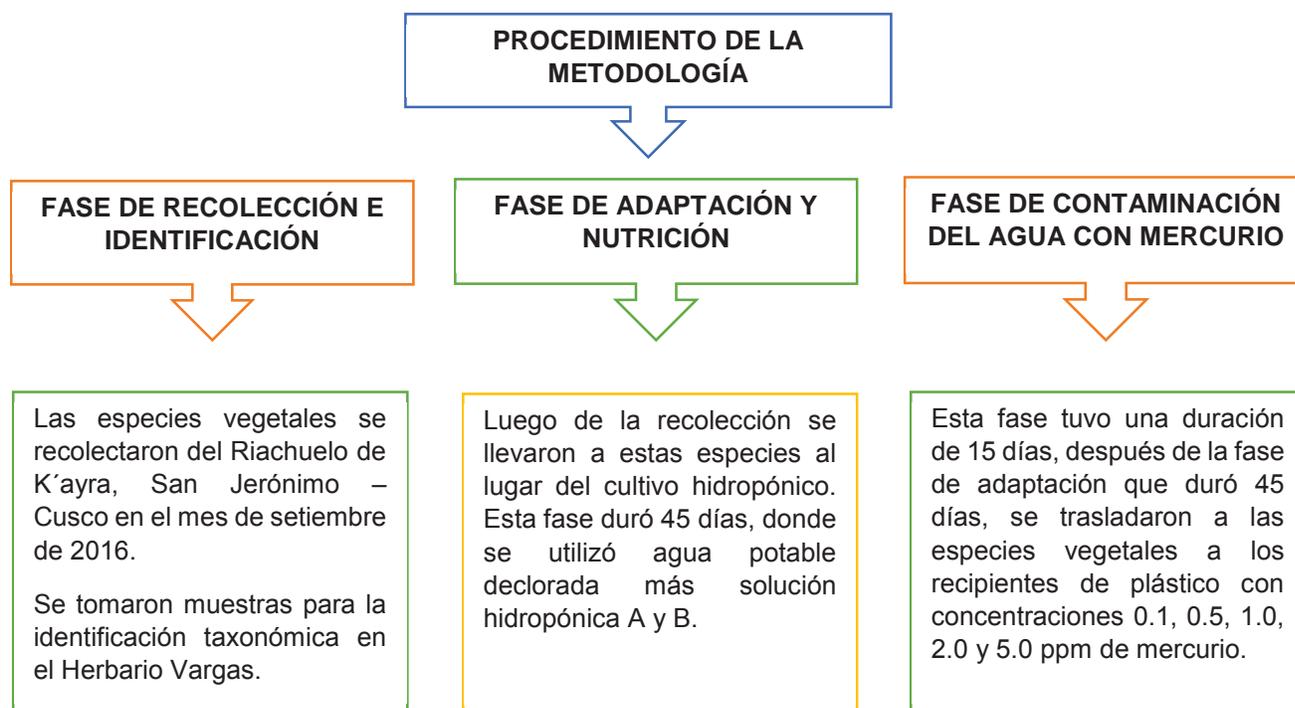
Se colocaron siete plantas en los recipientes de plástico conteniendo el contaminante mercurio, dispuestas como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla N° 9: Posicionamiento de las especies vegetales con el contaminante mercurio a diferentes concentraciones

<i>Para Nasturtium officinale (a)</i>							
N° DE REPETICIONES	Grupo control	Tratamiento con Mercurio (II) 0.1 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 0.5 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 1.0 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 2.0 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 5.0 ppm Hg^{2+}	
	Especie vegetal sin tratamiento	Berro 1	Berro 1				
		Berro 2	Berro 2				
		Berro 3	Berro 3				
<i>Para Hydrocotyle ranunculoides (b)</i>							
N° DE REPETICIONES	Grupo control	Tratamiento con Mercurio (II) 0.1 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 0.5 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 1.0 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 2.0 ppm Hg^{2+}	Tratamiento con Mercurio (II) 5.0 ppm Hg^{2+}	
	Especie vegetal sin tratamiento	Mateccllo 1	Mateccllo 1				
		Mateccllo 2	Mateccllo 2				
		Mateccllo 3	Mateccllo 3				

Fuente: Elaboración propia

Flujograma N° 1: FASES PARA EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMIADORA DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*



Fuente: Elaboración propia

3.3.4 PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO EN RAÍZ, PARTE AÉREA Y AGUA.

- **En la especie vegetal:**

Pasado los 15 días de contaminación, se tomaron de las 7 plantas 4 de cada recipiente, se separaron en raíz y parte aérea, luego se secaron en papel Kraft a temperatura ambiente (17-18 °C), durante una semana.

Para determinar la concentración de mercurio absorbida por las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides*, se utilizó para la extracción el método de ditizona – 3500 Hg y se midió en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica.

- **En agua:**

Pasado los 15 días de experimentación se recolectaron de las 30 muestras un contenido de 1 L de la parte media del recipiente para analizar la concentración final de mercurio. Para la determinación de la concentración de mercurio en agua se utilizó el método de ditizona – 3500 Hg. C. y se midió en el equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

- **PROCEDIMIENTO:**

- A. CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO EN ESPECIE VEGETAL**

- Se procedió a moler las muestras previamente secas y se pesaron aproximadamente 0.3 g. y 0.5 g. de raíz y parte aérea respectivamente.
 - Seguidamente se hizo la respectiva digestión con H_2SO_4 y HNO_3 concentrados volumen 1:1, para tener un volumen de 10 mL., se calentó y filtró con lana de vidrio, luego se lavó los tubos con agua, se aforó a 100 mL y se pasó a envases de vidrio con tapa, donde se añadió $KMnO_4$ para oxidar el hierro y manganeso, y para eliminar la coloración rosa se añadió clorhidrato de hidroxilamina al 5 %.

Seguidamente se siguió el procedimiento de "Extracción por el método de la ditizona". (55).

MÉTODO DE LA DITIZONA - 3500 Hg C. (55)

Fundamento de la extracción de mercurio por el método de la ditizona

El mercurio ionizado reacciona con la ditizona para dar un complejo coloreado: el ditizonato de mercurio, que presenta tonos entre anaranjado y rojo. La ditizona disminuye la tensión superficial de las disoluciones, produciendo gotas pequeñas y aumentando la cantidad de muestra que llega a la llama.

La ditizona es el reactivo de elección cuando es cuestión de aislar mercurio de una solución conteniendo una sola parte pequeña de metales pesados tales como cobre, plata, zinc, etc., porque al combinarse la ditizona y el mercurio forma ditizonato de mercurio, el cual puede ser extraído cuantitativamente de la solución débilmente básica, esta es fácilmente descompuesta por agitación del solvente orgánico con una solución ácida diluida 0.01N de ácido sulfúrico. (56).

a. Procedimiento de la extracción con ditizona

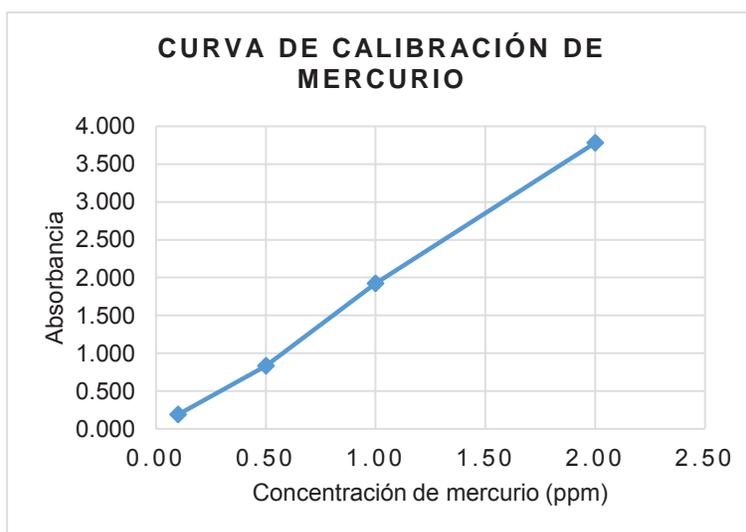
1. A 15 mL de la muestra ácida (con un pH menor a 2) se le aumentó el pH con hidróxido de sodio 0.1 N hasta que llegue a pH 8.1 aproximadamente. A esto se le añadió $KMnO_4$ para precipitar el hierro y manganeso y para eliminar la coloración rosa se añadió clorhidrato de hidroxilamina al 5%.
2. Luego se puso la muestra en una pera de decantación de 250 mL y se adicionó 5 mL de ditizona al 0.002% en medio clorofórmico, se agitó constantemente durante unos 5 minutos y luego se dejó en reposo hasta que se separe la fase clorofórmica (esta se distingue por la presencia de gotitas de color rojo que poco a poco van bajando).

3. Posteriormente se obtuvo la porción clorofórmica y se desechó la acuosa porque el mercurio está presente en esta fracción de la muestra.
4. Luego se pasó a otra pera de decantación donde se agregó la solución clorofórmica y se añadió 10 mL de ácido sulfúrico 2% y se agitó. Se dejó reposar para separar las fases y luego se depositó en tubos de ensayo.
5. Se reunieron los extractos orgánicos para la determinación de mercurio en el espectrofotómetro de absorción atómica.
6. Para cada grupo de pruebas se preparó la solución estándar de mercurio.

b. Preparación de la solución estándar de mercurio:

Se disolvió 1.354 g. de cloruro de mercurio en 10 mL de ácido nítrico(c). Se usó el calor para ayudar la disolución. Se transfirió a una fiola de 1 L y se aforó con agua destilada para obtener 500 ppm de mercurio.

Concentración de mercurio (ppm)	Absorbancia (nm)
0.1	0.190
0.5	0.833
1.0	1.920
2.0	3.781

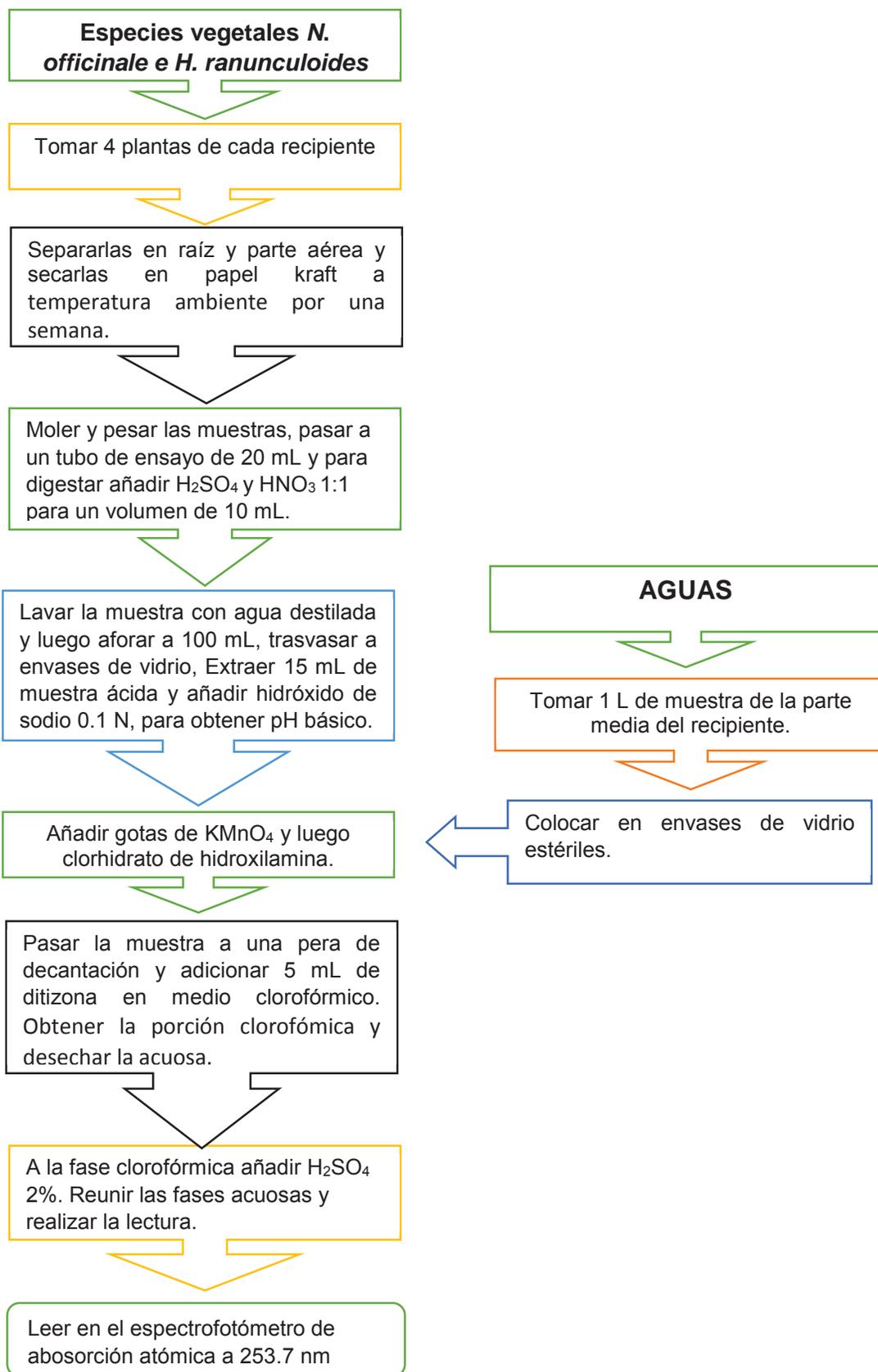


Fuente: Datos obtenidos del laboratorio

B. PROCEDIMIENTO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN AGUA

Se recolectó 1 L de muestra de cada recipiente sin remover, las muestras obtenidas se trasvasaron a envases de vidrio, donde se les añadió KMnO_4 , seguidamente se le adicionó clorhidrato de hidroxilamina para decolorar el exceso de permanganato. Luego se siguió la técnica del método de la ditizona para la extracción de mercurio.

Flujograma N° 2: PRODEDIMIENTO DE LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO EN AGUA Y ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*



Fuente: Elaboración propia

3.3.5 CÁLCULO PARA HALLAR EL FACTOR DE BIOACUMUALCIÓN (BAF) Y FACTOR DE TRASLOCACIÓN (22)

Este procedimiento se realizó al tener los resultados finales de la experimentación. El cálculo del factor de bioacumulacion (BAF) se hizo para estimar la relación entre los residuos de mercurio en las plantas y las concentraciones medidas en el medio donde viven (agua). Los BAF se calcularon dividiendo la concentración de mercurio total en la planta con la del agua. Los factores de bioacumulación indican qué especies de plantas pueden ser consideradas acumuladoras, tolerantes o exclusoras.

El factor de traslocación se obtuvo dividiendo la concentración en el órgano de interés (parte aérea) entre la concentración en la raíz. Los factores de bioacumulación y traslocación indicarán qué especies de plantas pueden ser consideradas acumuladoras, tolerantes o exclusoras. Las plantas con $BAF \geq 1000$ mg/L y $FT \geq 1$ mg/L son considerados como acumuladoras o híper acumuladoras, las que presentan valores < 1000 mg/L y < 1 mg/L, respectivamente, son consideradas como tolerantes y las que presentan valores < 100 mg/L y < 1 mg/L se consideran como plantas exclusoras. (22)

Factor de bioacumulación (BAF):

$$BAF = [Hg] \text{ tejidos} / [Hg] \text{ agua}$$

Donde:

[Hg] tejidos= Es la concentración total de mercurio en el tejido vegetal (raíz y parte aérea).

[Hg] agua= Es la concentración de mercurio inicial en el agua contaminada.

Factor de traslocación (FT):

$$FT = [Hg] \text{ parte aérea} / [Hg] \text{ raíz}$$

Donde:

[Hg] parte aérea= Es la concentración total de mercurio en parte aérea.

[Hg] agua= Es la concentración total de mercurio en raíz.

3.3.6 PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA MORFOLOGÍA EXTERNA E INTERNA DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*

A. EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE CLOROSIS Y NECROSIS FOLIAR DE *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides* DURANTE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO (60)

Durante los 15 días de contaminación se observó la aparición de clorosis y necrosis foliar a las diferentes concentraciones de mercurio.

B. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA EXTERNA (MORFOMETRÍA) (60)

La morfometría se realizó antes y después de la contaminación del agua con mercurio, donde después de la contaminación que duró 15 días se observaron cambios en el crecimiento tanto de la raíz como el de la parte aérea.

Para obtener las características morfológicas de las muestras vegetales, se utilizó el vernier y la observación directa, considerando los siguientes parámetros:

- Talla de la planta en cm.
- Longitud del tallo en cm.
- Diámetro del tallo en cm.
- Longitud de raíz en cm.
- Longitud de hojas en cm.
- Ancho de hojas en cm

• DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA INTERNA: (60)

Después de los 15 días de contaminación con mercurio se procedió a realizar los cortes histológicos de ambas especies para observar los efectos tóxicos de este metal a nivel de tejidos.

Preparación de la muestra:

1. Fijación de muestra

Para fijar la muestra se sometió a la solución FAA (Formaldehído; Ac. Acético; Alcohol 70°) durante 24 horas.

2. Deshidratación

Se sometió las muestras a una batería de alcoholes en grado ascendente 70%, 90%, 96% y absoluto, para cada uno de los pasos 6 horas.

3. Clarificación

Luego se sometió la muestra a una mezcla de Benceno + Alcohol en proporciones de 1:3, 1:1, 3:1 y Benceno puro, para cada uno de los pasos de 2 a 3 horas y el paso final de una hora.

4. Infiltración

Luego del aclaramiento se sometió a las muestras a la mezcla Benceno-Parafina en proporción de 3:1 durante 24 horas a 62 °C.

5. Inclusión

Después de la infiltración se pasó las muestras a un Beaker conteniendo parafina licuada a 62 °C durante 2 horas. Luego se vertió dentro de las escuadras de Leukart parafina licuada pura hasta la mitad de la altura total, se situó la muestra de acuerdo a la orientación requerida y se cubrió la misma con parafina hasta cubrir la totalidad de la altura de la escuadra. Finalmente se realizó los cortes con un micrótomo.

6. Desparafinado

En una lámina portaobjetos se colocó unas gotas de ovoalbúmina y se extendió sobre estas los cortes seleccionados, luego se secó en un horno a 62 °C de forma inclinada hasta que la parafina quedó eluida totalmente.

7. Coloración

Se colocó a las muestras en benceno puro para lavar la parafina, luego se pasó las muestras a alcohol de 96, 90 y 70 %, durante 10 minutos para cada uno de estos pasos, para la coloración se puso las muestras en Zafranina durante 5 minutos y Fast Green durante 10 segundos.

8. Finalmente se observaron la presencia o ausencia de alteraciones en la organización celular, pared celular y haz vascular en el microscopio a 4X, 10X y 40X.

• ÍNDICE ESTOMÁTICO Y DENSIDAD ESTOMÁTICA (65)

• Índice estomático

Expresada como:

$$IE = (\text{número de estomas/número de células epidérmicas} + \text{número de estomas})$$

• Densidad estomática

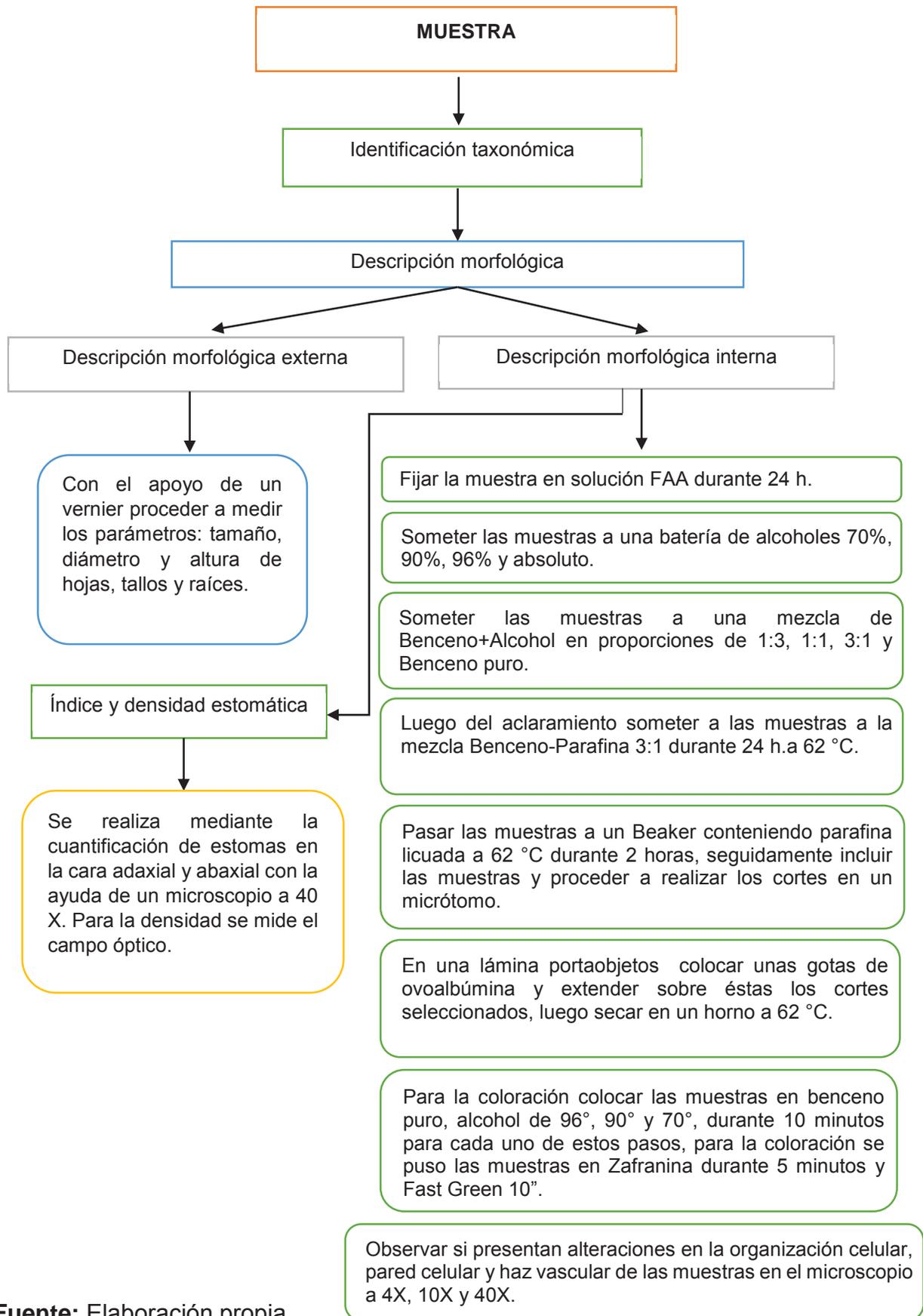
Expresada como:

$$DE = \text{número de estomas/mm}^2$$

Representa el cociente entre el número de estomas y la cantidad de células epidérmicas dando un porcentaje

- Para el conteo del número de estomas se procedió a obtener la epidermis del tallo y hoja (haz y envés). Luego se hizo el conteo del número de estomas a 40 X.
- Para hallar la densidad estomática se procedió a hallar el campo óptico en mm^2 . El cual fue 0.181 mm^2 .

Flujograma N° 3: PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA MORFOLOGÍA EXTERNA E INTERNA DE *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*



Fuente: Elaboración propia

3.3.7 PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS PROXIMAL

Este procedimiento se realizó antes y después de la contaminación con mercurio, con la finalidad de determinar las concentraciones de grasas, proteínas y carbohidratos ya que estos tienen un papel importante en el mecanismo de fitorremediación.

Cada procedimiento se realizó con tres repeticiones.

3.3.7.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (MÉTODO GRAVIMÉTRICO) (66)

- **Fundamento:** Consiste en eliminar agua de la muestra por evaporación y luego por pérdida de peso se determina el porcentaje de humedad para hallar el contenido de materia seca.

- Parte experimental

1. Se pesó 3 gramos de muestra en placa Petri.
2. Se colocó en la estufa a la temperatura 70 °C hasta obtener peso constante.
3. Se dejó enfriar en el desecador y luego se pesó.

- Cálculos

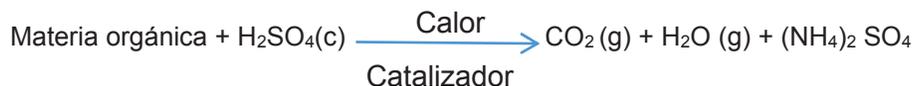
- Peso de la muestra (Pm)
- Peso de la muestra seca (Pms)

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{P_m - P_{ms}}{P_{ms}} \times 100$$

3.3.4.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA TOTAL (MÉTODO KJELDAHL AOAC, 991.20 (ADAPTADO) (66)

El nitrógeno es el elemento químico más sobresaliente que se encuentran en las proteínas y a pesar que no todo el nitrógeno de la materia orgánica proviene necesariamente de las proteínas, los métodos de determinación de proteínas totales usados hoy en día se fundamentan en la cuantificación de nitrógeno total. El método aceptado universalmente como estándar para la determinación de nitrógeno total es el conocido como el método de Kjeldahl Willfart – Gunninfg.

- **Fundamento:** Toda materia orgánica es degradable cuando se somete a un proceso de digestión en presencia de un ácido y catalizador formándose sales que contienen nitrógeno, el nitrógeno se libera en forma de amoníaco por una reacción de sustitución con una base fuerte, el nitrógeno liberado se captura en ácido para luego cuantificar por titulación ácido- base.
- **Digestión:** Se emplea ácido sulfúrico concentrado más el catalizador Dióxido de Selenio, que con ayuda de calor y sulfato de potasio oxidan la materia orgánica hasta CO₂ y agua, transforman todo el nitrógeno amínico (NH₂) e imínico (NH = NH) provenientes de proteínas y aminoácidos en ion amonio (NH₄⁺). La reacción general que tiene lugar es la siguiente:



Cuando la digestión termina, la solución queda transparente de color azul verdoso, libre de partículas carbonosas.

- **Destilación:** La muestra se trata con un álcali (NaOH 45 %m/V) añadido en exceso, el cual reacciona (reacción de sustitución) liberándose el amoníaco que es volátil y se destila por arrastre con vapor.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



El amoníaco destilado se recoge en un Erlenmeyer con una solución de ácido bórico al 2.5 % con indicador mixto.

La reacción que ocurre es la siguiente es:



Valoración del ión borato más amonio formado se valora utilizando como patrón una solución estandarizada de H₂SO₄ 0.01 N, según:



El punto final de la valoración estará a pH ácido, por la presencia de ácido bórico finalmente formado. El contenido de nitrógeno finalmente calculado se multiplica por un factor característico de cada alimento y se obtiene entonces el contenido de proteínas totales. Los factores de conversión utilizados para algunos alimentos se relacionan a continuación:

Tabla N° 10: Factores de conversión para proteínas

Alimento	Factor de conversión de nitrógeno a proteína
Harina de trigo	5,70
Trigo, centeno, cebada	5,83
Arroz	5,95
Leche y derivados	6,38
Carne y derivados	6,25
Clara de huevo	6,70
Yema de huevo	6,62
Huevo entero	6,68
Gelatina	5,55
Vegetales	6,25

Fuente: Owen R. F, Química de los alimentos (63)

- **Procedimiento:**

Se pesó 1 g de muestra y se acondicionó en papel para proceder a colocar al balón Kjeldahl, luego se agregó 3mL de H₂SO₄ en presencia de un catalizador [Dióxido de Selenio] y se colocó en la cocina de digestión hasta que la muestra quede cristalina, la muestra digestada se dejó enfriar y se lavó con agua destilada. Para la destilación se agregaron 20 mL de NaOH (45 %) e inmediatamente se conectó vapor para que se produzca la destilación. El destilado se recibió en un Erlenmeyer de 250 mL con contenido de ácido bórico al 2.5 % más indicador mixto; la destilación terminó cuando se obtuvo 60 mL de volumen, luego se procede a titular con ácido sulfúrico 0.01 N, se anotó el volumen gastado y se procedió a realizar los cálculos.

- **Cálculos:**

$$\%N_{total} = \frac{(V_f) \times N_{H_2SO_4} \times 0.014}{m} \times 100$$

Donde:

%Ntotal: Porcentaje de nitrógeno total

N = Normalidad de solución estándar de H₂SO₄

V_f = Volumen final de H₂SO₄ consumido

m = Peso en g de la muestra

Para obtener la cantidad de proteína bruta se multiplica por el factor de conversión que es 6.25 para productos vegetales (porción de nitrógeno representada por 100g de proteínas). (Ver tabla N° 11)

3.3.4.3 DETERMINACIÓN DE FIBRA TOTAL (MÉTODO GRAVIMÉTRICO HIDRÓLISIS ÁCIDA Y ALCALINA AOAC. 920,86 (ADAPTADO) (66)

En la actualidad se considera que la es el total de polisacáridos de plantas junto con la lignina que son resistentes a la digestión por la enzima del tracto gastrointestinal humano. La determinación de la fibra es genética y abarca una serie de sustancias químicamente definidas con propiedades físico-químicas peculiares y efectos fisiológicos individuales. (10)

- **Fundamento:** Su determinación se basa en la simulación de la digestión en el organismo por compuestos ácidos y alcalinos separando los constituyentes solubles de los insolubles que constituyen los desperdicios orgánicos a través de las heces.

- **Cálculos:**

$$\% Fibra total = \frac{p_1 - p_2}{p_m} \times 100$$

Donde:

- P_1 = Peso de la fibra cruda después de la digestión ácida alcalina en (g)
- P_2 = Peso de la muestra incinerada (ceniza), (g).
- P_m = Peso de la muestra (g)

- **Procedimiento:**

1. **Digestión ácida:** Se pesó 1 g de muestra en un vaso de 250 mL, se hizo hervir durante 30 min con 50 mL de H_2SO_4 (1.25 %), para luego filtrar y lavar con agua destilada caliente hasta neutralizar la acidez.
2. **Digestión alcalina:** Se añadieron 50 mL de NaOH (1,25%) y se hizo hervir por 30 min, se filtró y lavó con agua destilada caliente, luego se puso a la estufa por 2 horas, luego se dejó enfriar en un desecador y se registró el peso (P_1), nuevamente se llevó a la mufla por 2 horas a una temperatura de $500^\circ C$ y nuevamente se dejó enfriar en un desecador y se tomó el peso (P_2). Se realizaron cálculos.

3.3.4.4 DETERMINACIÓN DE CENIZA TOTAL: MÉTODO GRAVIMÉTRICO, POR CALCINACIÓN AOAC 940.26 (ADAPTADO) (66)

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica; representan el contenido mineral, es decir el conjunto de nutrientes elementales que están presentes en determinada muestra. El análisis de las cenizas se lleva a cabo por incineración total de la muestra a temperaturas elevadas y la determinación de la masa.

- **Fundamento:**

El agua y los vapores son volatilizados y la materia orgánica es quemada en presencia de oxígeno en aire a CO_2 y óxido de nitrógeno, la mayoría de los minerales son convertidos, en óxidos, sulfatos, fosfatos, cloruros y silicatos, elementos como el hierro, selenio, plomo y mercurio, pueden volatilizarse parcialmente con este procedimiento.

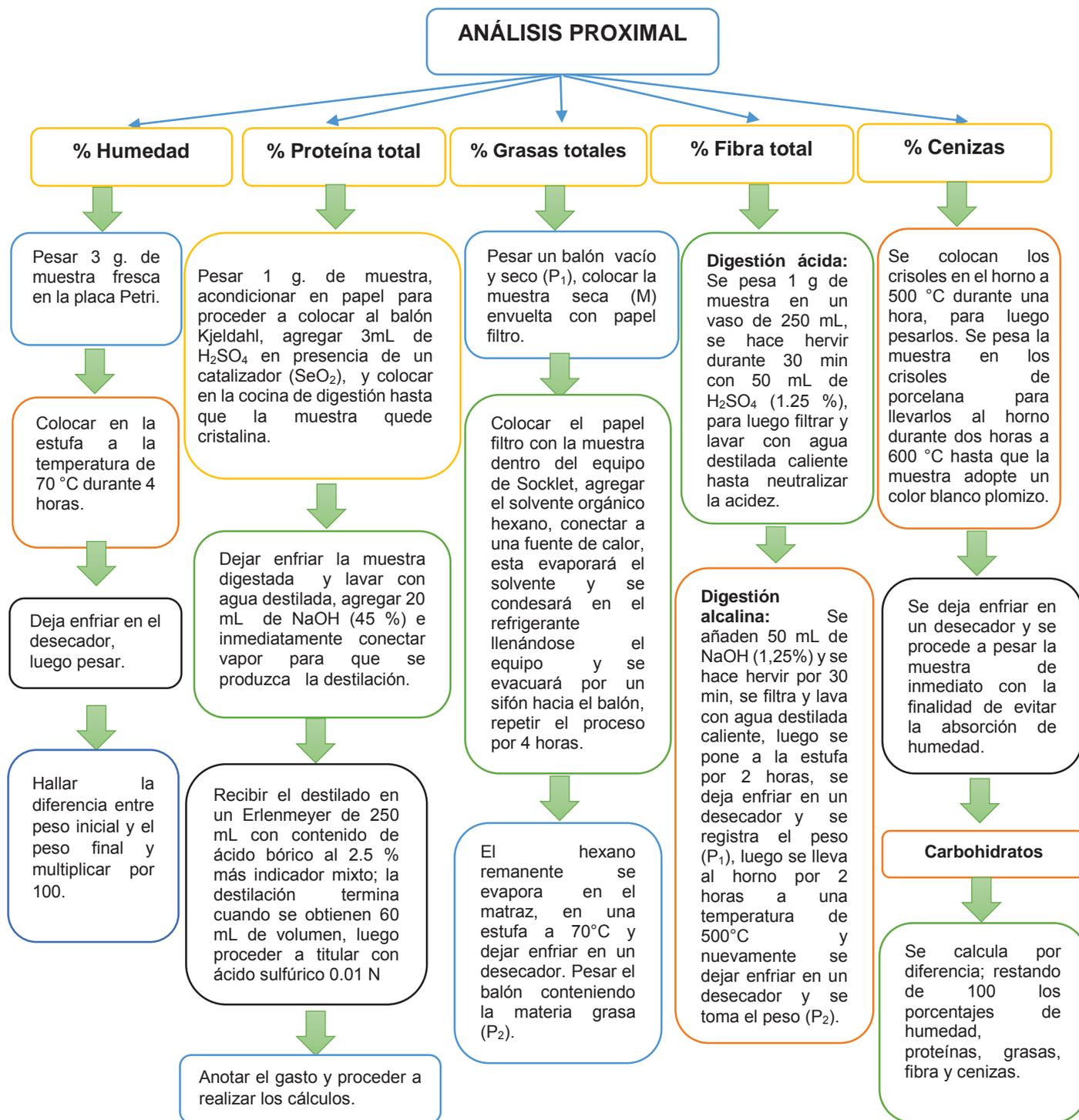
El porcentaje de ceniza se determina sometiendo a calcinación por 2 horas. A una temperatura de $600^\circ C$ hasta la eliminación de materia orgánica y quedando solo óxidos metálicos presentes y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ceniza total} = \frac{M_2 - M_1}{M} \times 100$$

- **Procedimiento:**

1. Se colocaron los crisoles en el horno a $500^\circ C$ durante una hora, para luego pesarlos.

Flujograma N° 4: ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*



Fuente: Elaboración propia

3.3.8 TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Los datos obtenidos de la concentración de mercurio después del experimento, fueron procesados mediante el paquete estadístico SPSS.21.0 (Statistical Package for Social Science), análisis de varianza de (ANOVA) y POST HOC (Tukey).

Intervalo o porcentaje de confianza

Todas estas pruebas estadísticas se realizaron al 95 % de confianza.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DE MERCURIO EN RAÍZ Y PARTE AÉREA (HOJAS Y TALLOS); DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

Tabla N° 11: Concentración final de mercurio en las especies vegetales

<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)			
PARTE VEGETAL	CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)
RAÍZ	CONTROL	3	0.000 / ± 0.000
	0.1	3	0.012 / ± 0.0015
	0.5	3	0.070 / ± 0.0026
	1.0	3	0.134 / ± 0.0144
	2.0	3	0.304 / ± 0.0046
	5.0	3	0.573 / ± 0.0067
ÁÉREA	CONTROL	3	0.000 / ± 0.000
	0.1	3	0.029 / ± 0.0015
	0.5	3	0.143 / ± 0.0031
	1.0	3	0.212 / ± 0.0355
	2.0	3	0.253 / ± 0.0076
	5.0	3	0.277 / ± 0.0092
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)			
PARTE VEGETAL	CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)
RAÍZ	CONTROL	3	0.000 / ± 0.000
	0.1	3	0.017 / ± 0.0056
	0.5	3	0.104 / ± 0.0036
	1.0	3	0.167 / ± 0.0087
	2.0	3	0.265 / ± 0.0042
	5.0	3	0.371 / ± 0.0035
ÁÉREA	CONTROL	3	0.000 / ± 0.000
	0.1	3	0.024 / ± 0.0061
	0.5	3	0.090 / ± 0.0035
	1.0	3	0.111 / ± 0.0089
	2.0	3	0.207 / ± 0.0038
	5.0	3	0.272 / ± 0.0030

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 12: ANOVA DE *Nasturtium officinale* (Berro)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración (ppm) Hg ²⁺ raíz	Entre grupos	,616	4	,154	2722,449	,000
	Dentro de grupos	,001	10	,000		
	Total	,616	14			
Concentración (ppm) Hg ²⁺ parte aérea	Entre grupos	,119	4	,030	105,200	,000
	Dentro de grupos	,003	10	,000		
	Total	,122	14			
Concentración (ppm) Hg ²⁺ en agua	Entre grupos	19,421	4	4,855	9068,636	,000
	Dentro de grupos	,005	10	,001		
	Total	19,427	14			

De acuerdo a estos resultados el valor de sig. es menor a 0,05 entonces se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la hipótesis alterna al 95% de confianza.

H₁: Las diferentes concentraciones de Hg²⁺ en el tratamiento INFLUYEN en la absorción por la planta.

Lo cual nos indica que la distribución de las medias muestrales difieren de acuerdo a la concentración de Hg²⁺ empleada en el tratamiento con *N. officinale*, por lo que podemos decir que las diversas concentraciones afectan directamente en la absorción de este metal por la planta.

ANÁLISIS DE POST HOC PARA *Nasturtium officinale* EN RAÍZ Y PARTE AÉREA

Tabla N° 13: Concentración (ppm) Hg²⁺ raíz de *Nasturtium officinale*

	Concentración Hg ²⁺	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD Tukey ^a	0.1 ppm	3	,01233				
	0.5 ppm	3		,06900			
	1.0 ppm	3			,13400		
	2.0 ppm	3				,30400	
	5.0 ppm	3					,57333
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

En la tabla N° 13 se puede observar que existen 5 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, es decir que en cada grupo experimental el Berro acumuló a nivel de la raíz diferentes concentraciones de mercurio.

Tabla N° 14: Concentración (ppm) Hg²⁺ parte aérea de *Nasturtium officinale*

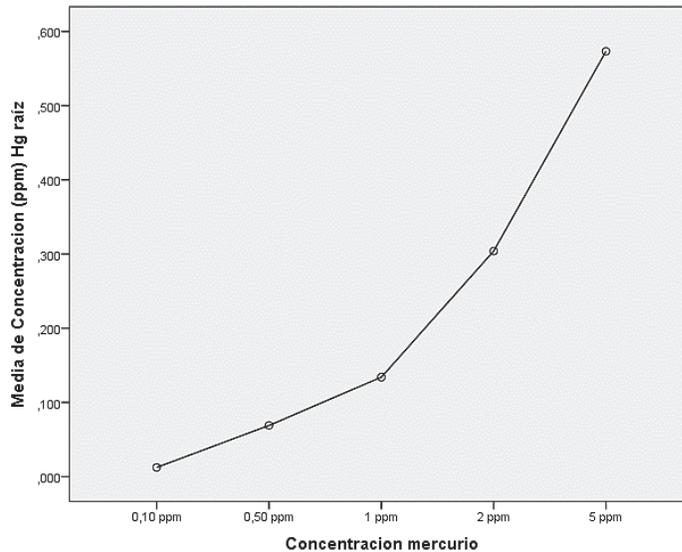
	Concentración Hg ²⁺	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD Tukey ^a	0.1 ppm	3	,02967			
	0.5 ppm	3		,14267		
	1.0 ppm	3			,21167	
	2.0 ppm	3			,25300	,25300
	5.0 ppm	3				,27700
	Sig.			1,000	1,000	,077

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

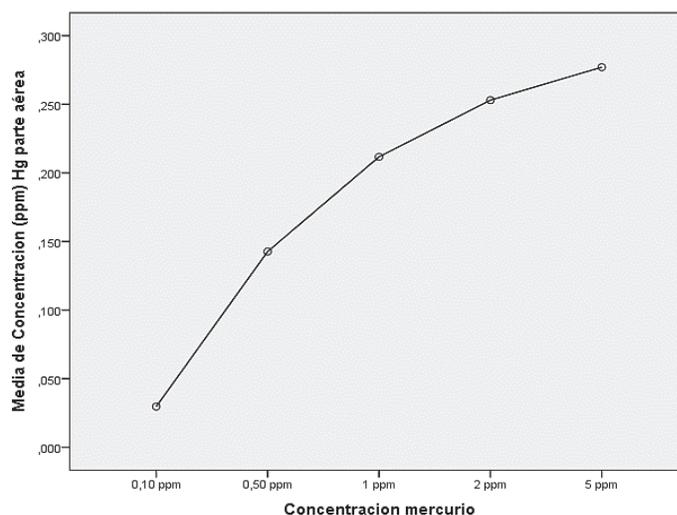
En la tabla N° 14 se observa que existen 4 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, a diferencia del grupo 3, las medias muestrales son significativamente similares en la concentración de 1.0 ppm y 2.0 ppm Hg^{2+} , y el grupo 4, donde las medias muestrales son ligeramente similares a la concentración de 2.0 ppm y 5.0 ppm Hg^{2+} , es decir que en cada grupo experimental el Berro acumuló a nivel de la parte aérea diferentes concentraciones de mercurio a excepción de los grupos 3 y 4.

Gráfico N° 1: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO CON LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE LA RAÍZ DE *Nasturtium officinale*



En el gráfico N° 1 se observa la curva de incremento de la absorción de mercurio, donde a mayor incremento de la concentración, mayor fue la absorción.

Gráfico N° 2: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO CON LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE LA PARTE AÉREA DE *Nasturtium officinale*



En el grafico N° 2 se observa la curva de incremento de la absorción de Hg^{2+} , donde a mayor incremento de la concentración, mayor fue la absorción en la parte aérea.

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA *Hydrocotyle ranunculoides* EN RAÍZ Y PARTE AÉREA

Tabla N° 15: ANOVA DE *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración (ppm) Hg ²⁺ raíz	Entre grupos	,314	7	,045	1498,113	,000
	Dentro de grupos	,000	10	,000		
	Total	,314	17			
Concentración (ppm) Hg ²⁺ parte aérea	Entre grupos	,165	7	,024	777,122	,000
	Dentro de grupos	,000	10	,000		
	Total	,166	17			
Concentración (ppm) Hg ²⁺ en agua	Entre grupos	28,007	7	4,001	1000241,000	,000
	Dentro de grupos	,000	10	,000		
	Total	28,007	17			

De acuerdo a estos resultados el valor de sig. es < a 0,05 entonces se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis alterna al 95% de confianza.

Lo cual nos indica que la distribución de las medias muestrales difieren de acuerdo a la concentración de mercurio, empleada en el tratamiento con *H. ranunculoides*. Las diversas concentraciones afectan directamente en la absorción de este metal por la planta.

ANÁLISIS DE POST HOC PARA *Hydrocotyle ranunculoides* EN RAÍZ Y PARTE AÉREA

Tabla N° 16: Concentración (ppm) Hg²⁺ raíz de *Hydrocotyle ranunculoides*

Concentración Hg ²⁺	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
HSD Tukey ^a 0.1 ppm	3	,01700				
0.5 ppm	3		,10400			
1.0 ppm	3			,16700		
2.0 ppm	3				,26467	
5.0 ppm	3					,37133
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

En la tabla N° 16 se observa que existen 5 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, es decir que en cada grupo experimental el Mateccllo acumuló a nivel de la raíz diferentes concentraciones de mercurio.

Tabla N° 17: Concentración (ppm) Hg²⁺ parte aérea de *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)

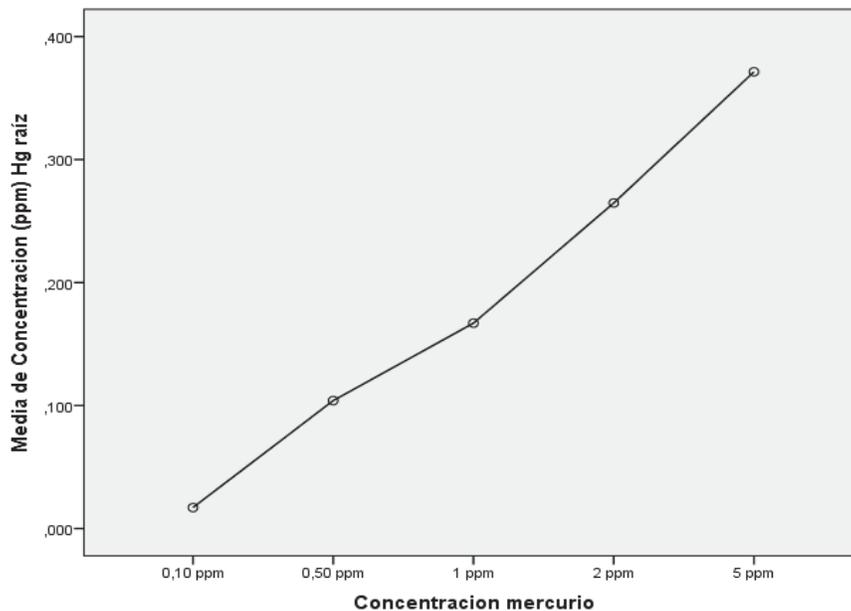
	Concentración Hg ²⁺	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD Tukey ^a	0.1 ppm	3	,02433				
	0.5 ppm	3		,08967			
	1.0 ppm	3			,11100		
	2.0 ppm	3				,20667	
	5.0 ppm	3					,27200
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

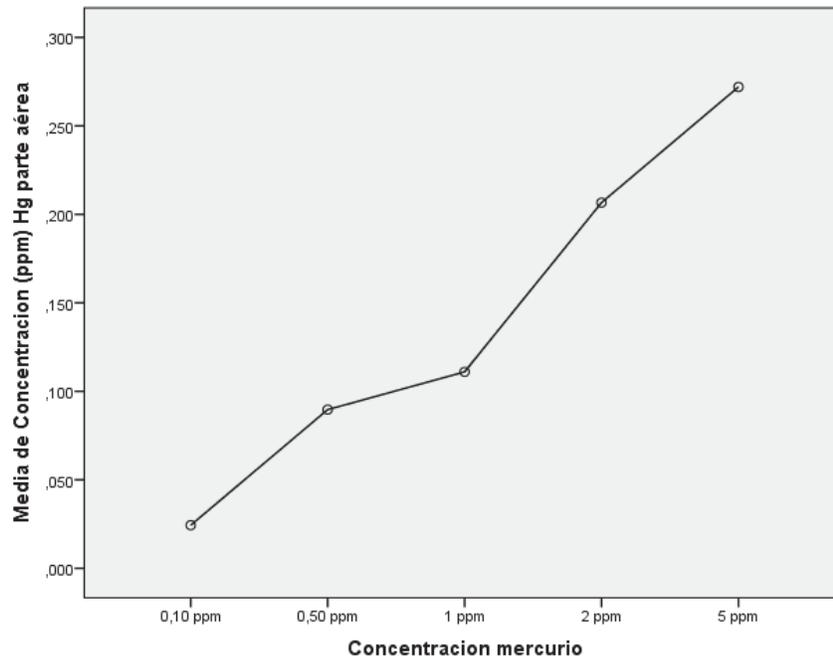
En la tabla N° 17 se puede observar que existen 5 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, es decir que en cada grupo experimental el Mateccllo acumuló a nivel de la parte aérea diferentes concentraciones de mercurio.

Gráfico N° 3: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO CON LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE LA RAÍZ DE *Hydrocotyle ranunculoides*



En el presente gráfico se observa la curva de incremento de la absorción de Hg²⁺, donde a mayor incremento de la concentración, mayor fue la absorción.

Gráfico N° 4: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO CON LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE LA PARTE AÉREA de *Hydrocotyle ranunculoides*



En el presente gráfico se observa la curva de incremento de la absorción de Hg^{2+} , donde a mayor incremento de la concentración, mayor fue la absorción.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la tabla N° 11 se muestran las concentraciones de mercurio absorbidas por las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides*, en estas se observa que a bajas concentraciones existe una mayor traslocación de la raíz a la parte aérea y a altas concentraciones disminuye la traslocación de mercurio e incrementa la acumulación en raíz. Lane S. y Martin E. plantean que las raíces absorben cantidades significativas de metales, pero simultáneamente restringen su traslocación a la parte aérea, ello probablemente debido a que la retención del metal en las raíces se basa en la unión de metal a sitios de intercambio de iones sobre la pared celular y en la precipitación extracelular en la forma de carbonato de mercurio (68).

Nuestros resultados muestran que hay traslocación aún en concentraciones altas, y que la fitotoxicidad es mayor debido a la alta concentración de mercurio, esto podría ser sustentado por el estudio morfológico, donde se observa que a nivel radicular hay alteraciones en el cilindro cortical y Banda de Caspari, los cuales cumplen la función de ser membranas selectivas que al ser destruidas permiten el paso del Hg^{2+} hacia la parte aérea (68).

Entonces puede inferirse que sobrepasado un cierto umbral de concentración de metales, el metabolismo de estas especies vegetales se ve comprometido y es incapaz de adaptarse a la acumulación de elementos tóxicos. Además, algunos de los síntomas que presentaron (clorosis

y necrosis) son característicos de muerte celular. Sin embargo, en condiciones de estrés moderado se detectaron algunas respuestas específicas a Hg^{2+} , lo que ayudará a comprender las diferentes respuestas homeostáticas a elementos tóxicos (68).

4.2 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DE MERCURIO EN AGUA

Tabla N° 18: Concentración de mercurio en agua

<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)				
CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)		% DE REMOCIÓN
CONTROL	3	0.000 / ± 0.000		
0.1	3	0.002 / ± 0.0010		98.00
0.5	3	0.006 / ± 0.0017		98.80
1.0	3	0.257 / ± 0.0411		74.30
2.0	3	0.700 / ± 0.0070		65.00
5.0	3	3.014 / ± 0.0305		39.72
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)				
CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)		% DE REMOCIÓN
CONTROL	3	0,000	± ,000	
0.1	3	0,0033	± ,0012	97.00
0.5	3	0,0483	± ,0029	90.40
1.0	3	0,3513	± ,0025	64.90
2.0	3	0,9000	± ,0010	55.00
5.0	3	3,4990	± ,0017	30.02
CONTROLES DE AGUA SIN PLANTAS				
CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	NÚMERO DE MUESTRAS	RESULTADO DE CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)		
CONTROL 0.1	1	0.100		
CONTROL 0.5	1	0.450		
CONTROL 1.0	1	0.900		
CONTROL 2.0	1	1.979		
CONTROL 5.0	1	4.930		

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 19: Concentración de Hg^{2+} en agua de *Nasturtium officinale*

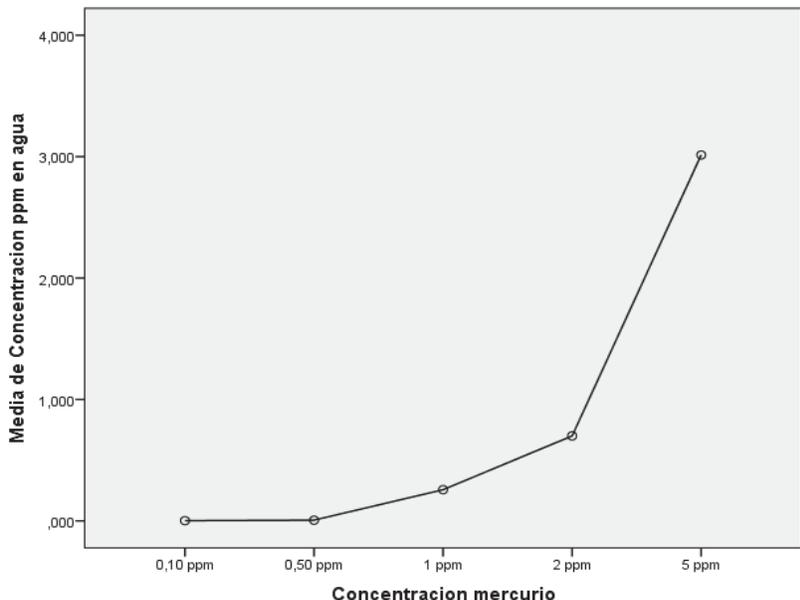
	Concentración de Hg^{2+}	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD	0.1 ppm	3	,0020			
Tukey ^a	0.5 ppm	3	,0060			
	1.0 ppm	3		,2570		
	2.0 ppm	3			,7000	
	5.0 ppm	3				3,014
	Sig.		,999	1,000	1,000	1,000

a. Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

b. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

En la tabla N° 19 se puede observar que existen 4 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, a diferencia del grupo 1, las medias muestrales son significativamente similares en la concentración de 0.1 ppm y 0.5 ppm.

Gráfico N° 5: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO INICIAL Y FINAL EN EL AGUA DE *Nasturtium officinale*



En el presente gráfico se observa la curva de incremento de la absorción de Hg^{2+} en agua, a mayor incremento de la concentración, menor fue la absorción de Hg^{2+} de la especie vegetal debido a la senescencia de esta.

Tabla N° 20: Concentración de Hg^{2+} en agua de *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccillo)

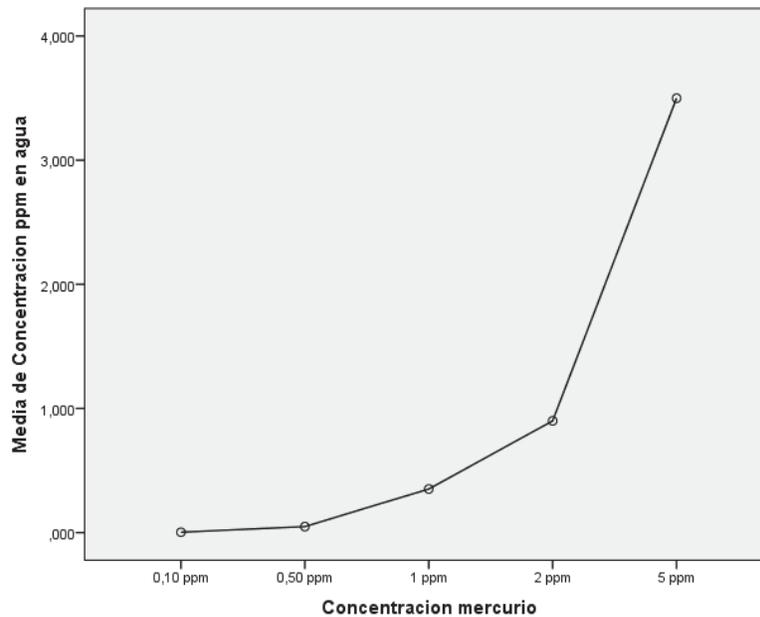
	Concentración Hg^{2+}	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD Tukey ^a	0.1 ppm	3	,00333				
	0.5 ppm	3		,04833			
	1.0 ppm	3			,35133		
	2.0 ppm	3				,90000	
	5.0 ppm	3					3,49900
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

En esta tabla se puede observar que existen 5 sub conjuntos, confirmando que las medias de cada grupo son significativamente diferentes, de igual manera el valor de significancia es > a 0,05.

Gráfico N° 6: RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO INICIAL Y FINAL EN EL AGUA DE *Hydrocotyle ranunculoides*



En el presente gráfico se observa la curva de incremento de la absorción de Hg^{2+} en agua, a mayor incremento de la concentración, menor fue la absorción de Hg^{2+} de la especie vegetal debido a la senescencia de esta.

ANÁLISIS

En la tabla N° 18, se muestran los resultados de la concentración final de mercurio en agua y el porcentaje de remoción donde se observa una disminución frente a las concentraciones iniciales, lo cual nos indica que a menor concentración de mercurio en agua hay mayor porcentaje de remoción y va disminuyendo a altas concentraciones, esto debido a que las especies vegetales son afectadas por la toxicidad del mercurio perdiendo su capacidad fitorremediadora.

4.3 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE BIOACUMULACIÓN (BAF) Y FACTOR DE TRASLOCACIÓN (FT) DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*

Tabla N° 21: Factor de bioacumulación y factor de traslocación

CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	<i>Nasturtium officinale (Berro)</i>	
	BAF	FACTOR DE TRASLOCACIÓN
	* MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)	* MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)
CONTROL	0.000 / ± 0.000	0.00 / ± 0.000
0.1	3832.99 / ± 0.043	2.40 / ± 0.043
0.5	2594.40 / ± 0.042	2.07 / ± 0.013
1.0	2083.84 / ± 0.080	1.60 / ± 0.035
2.0	1349.10 / ± 0.003	0.83 / ± 0.040
5.0	136.57 / ± 0.001	0.48 / ± 0.020
CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	<i>Hydrocotyle ranunculoides (Matecillo)</i>	
	BAF	FACTOR DE TRASLOCACIÓN
	* MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)	* MEDIA / SD Concentración de mercurio (ppm)
CONTROL	0.00 / ± 0.000	0.00 / ± 0.000
0.1	3761.09 / ± 0.069	1.56 / ± 0.080
0.5	1961.22 / ± 0.003	1.05 / ± 0.004
1.0	1332.66 / ± 0.060	0.76 / ± 0.009
2.0	874.93 / ± 0.010	0.78 / ± 0.030
5.0	295.50 / ± 0.000	0.73 / ± 0.010

* Promedio de 3 muestras

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

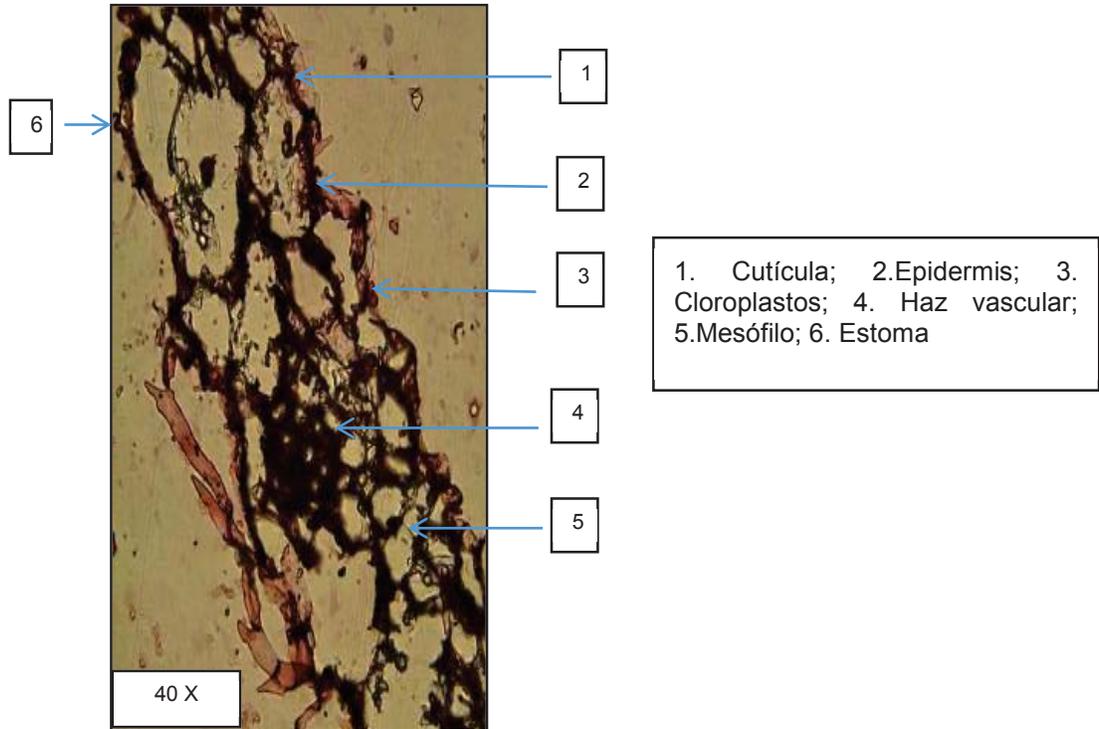
En la tabla N° 21, analizando los valores de BAF para *N. officinale* en raíz, se observa que a concentraciones: 0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 ppm de mercurio el BAF es > 1000 mg/L considerándose hiperacumuladora, mientras que para *H. ranunculoides* a concentraciones: 0.1, 0.5 y 1.0 ppm de Hg²⁺ el BAF es > 1000 mg/L. Por lo que podemos decir que ambas especies vegetales a concentraciones bajas (0.1-1.0 ppm de Hg²⁺) acumulan mercurio tanto en raíz como en parte aérea, y a medida que incrementa la concentración del contaminante disminuye la acumulación en la parte aérea. (22)

Los factores de traslocación para *N. officinale* se muestran > 1 mg/L a concentraciones: 0.1, 0.5 y 1.0 ppm Hg²⁺ y para *H. ranunculoides* a concentraciones 0.1 y 0.5 ppm Hg²⁺, con lo que podemos corroborar que a bajas concentraciones el mercurio se trasloca en mayor proporción hasta la parte aérea (22).

4.4 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA MORFOLOGÍA INTERNA RAÍZ Y PARTE AÉREA (TALLOS Y HOJAS) DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides*, MEDIANTE CORTES HISTOLÓGICOS.

4.4.1 RESULTADOS ANTES DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

Fotografía N° 1: CORTE TRANSVERSAL EN HOJA DE *Nasturtium officinale*



Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

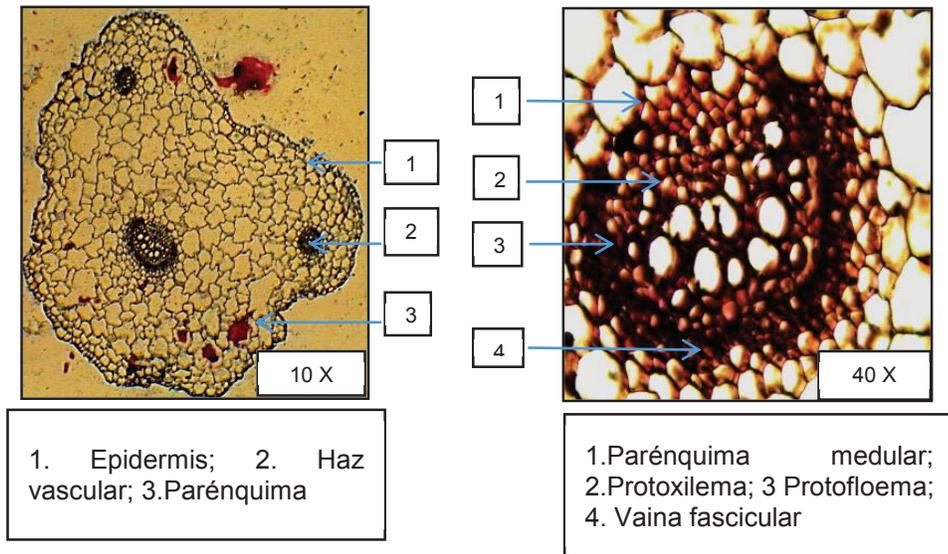
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El perfil transversal presenta una epidermis uniestratificada, cuyas células son polimorfas, con pared relativamente gruesa y son revestidas por una cutícula, la hoja muestra estomas en ambas fases, siendo caracterizada como anfiestomática y se localizan ligeramente por encima de las demás células epidérmicas.

El mesófilo es de tipo indiferenciado triestrata y las células epidermales presentan una discreta cantidad de cloroplastos como es característica de las especies macrofitas.

Los haces vasculares se encuentran rodeados de una vaina de células parenquimatosas, con vasos proxilemáticos indiferenciados.

Fotografía N° 2 : CORTE TRANSVERSAL EN TALLO DE *Nasturtium officinale*

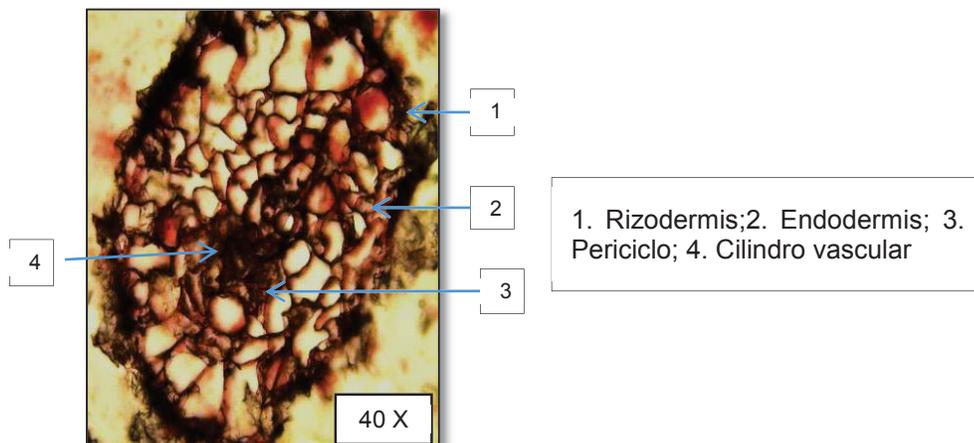


Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Los detalles del tallo muestran un conjunto de células epidérmicas cuadrangulares de 15 a 20 μm , con un córtex pluriestratificado de células festoneadas de 75 a 110 μm . Presenta un sistema vascular de tipo atactostela, dispersa entre el parénquima y la médula. Los haces vasculares presentan una vaina fascicular con protofloema y protoxilema claramente diferenciados, son del tipo cerrado, siendo esta una característica de las plantas que no presentan un crecimiento secundario.

Fotografía N° 3 : CORTE TRANSVERSAL EN RAÍZ DE *Nasturtium officinale*

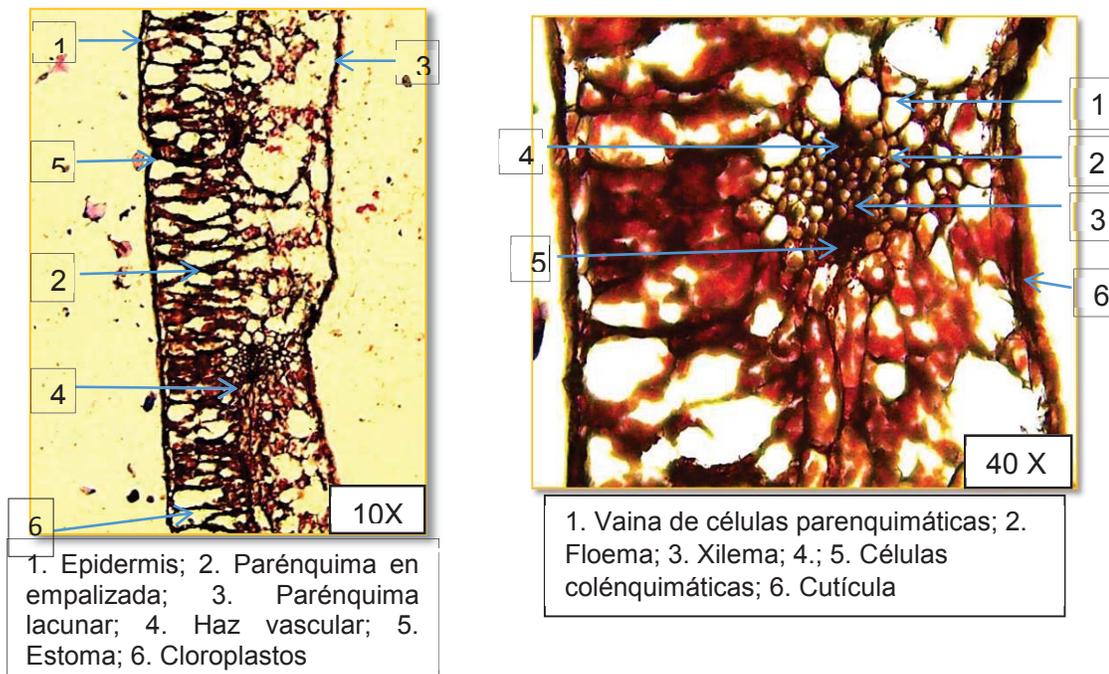


Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El perfil transversal presenta raíz cilíndrica con rizodermis uniestratificada, sin pelos radiculares, el córtex no presenta exodermis y en la endodermis que delimita el cilindro vascular se aprecia una disposición monarca.

Fotografía N° 4 : CORTE TRANSVERSAL EN HOJA DE *Hydrocotyle ranunculoides*

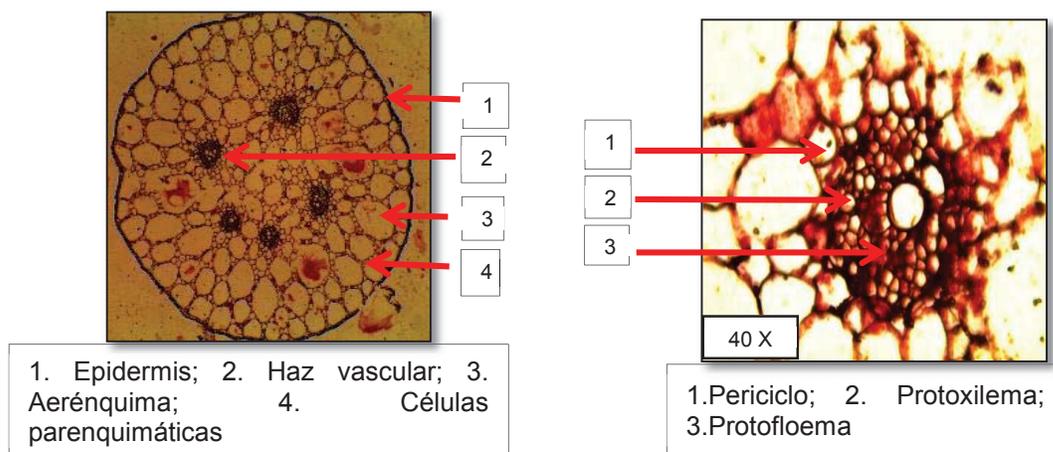


Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El perfil transversal presenta una epidermis adaxial glabra, con células ovoides aplanadas, pared relativamente gruesa y están revestidas por una cutícula. La hoja muestra un mesófilo foliar dorsiventral, con el parénquima en empalizada biestratificada de células polidiamétricas alargadas y un parénquima esponjoso con epidermis abaxial uniestratificada, estomas en ambas fases, siendo caracterizada como anfiestomática y se localizan ligeramente por encima de las demás células epidérmicas. Las células epidérmicas presentan una discreta cantidad de cloroplastos como es característico de las especies macrofitas. El haz vascular se encuentra dentro de una vaina de células parenquimáticas, mostrando floema, xilema y células colenquimáticas.

Fotografía N° 5 : CORTE TRANSVERSAL EN TALLO DE *Hydrocotyle ranunculoides*

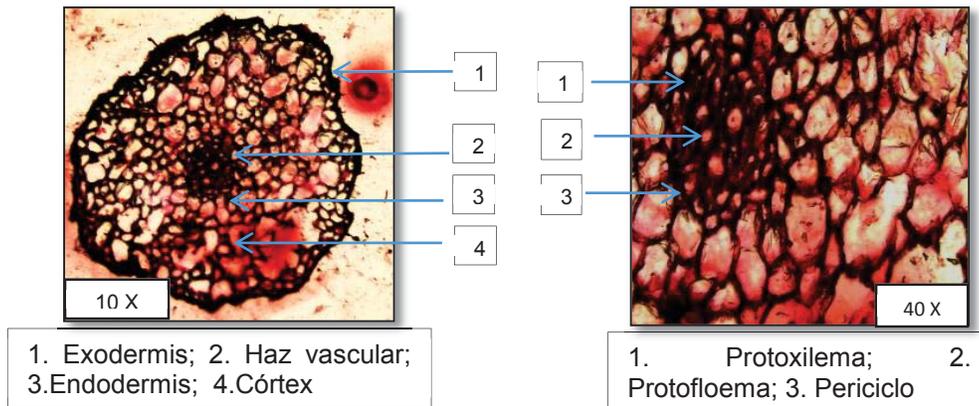


Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Los detalles del tallo muestran un conjunto de células epidérmicas cuadrangulares biestratificadas, con un córtex y cilindro central indiferenciados debido a la presencia de aerénquimas de distribución radial. Presenta un sistema vascular de tipo atactostela y los haces vasculares son del tipo cerrado siendo esta una característica de las plantas que no presentan un crecimiento secundario.

Fotografía N° 6 : CORTE TRANSVERSAL EN RAÍZ DE *Hydrocotyle ranunculoides*



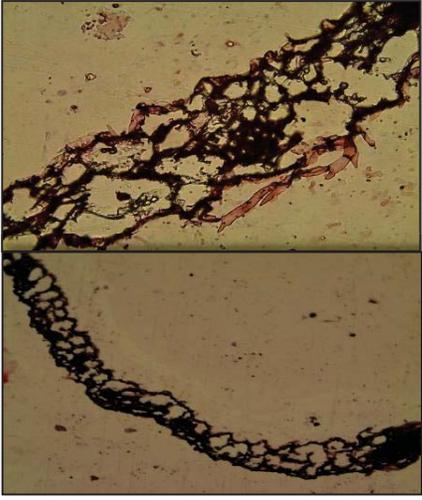
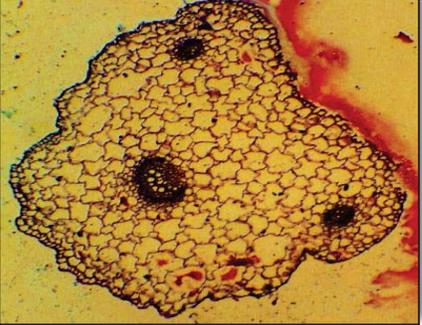
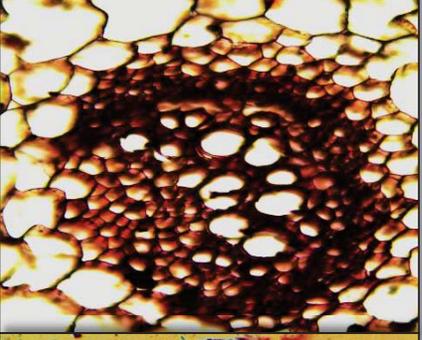
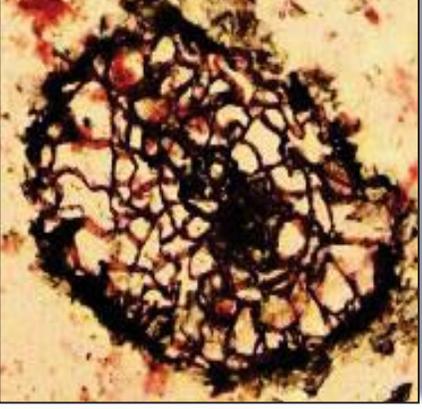
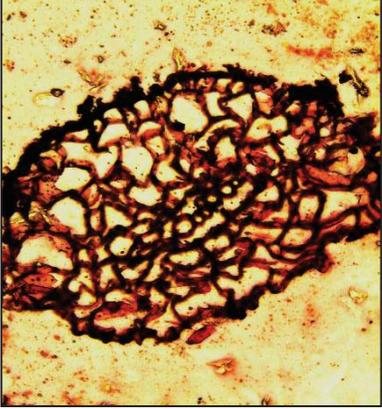
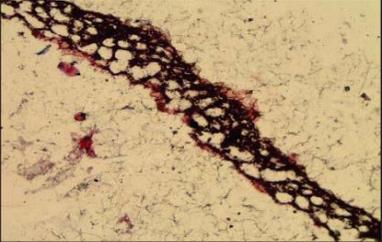
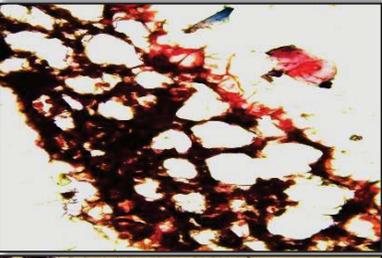
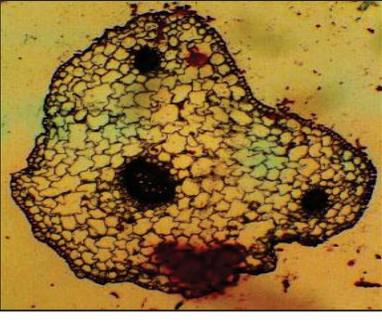
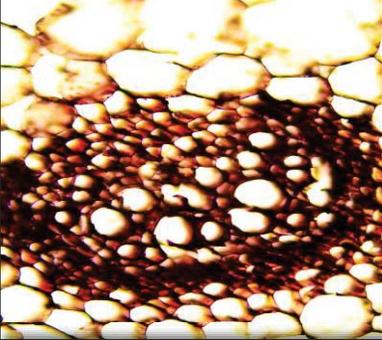
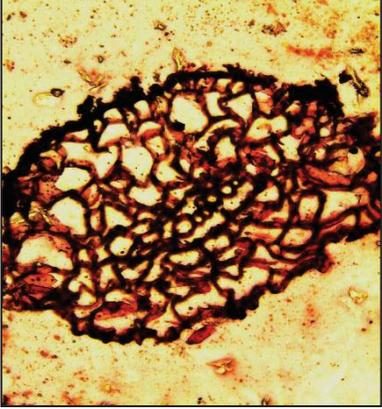
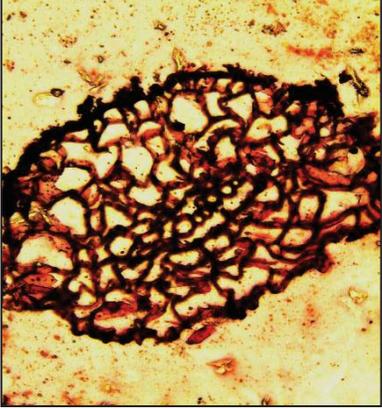
Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El perfil radicular presenta forma cilíndrica con rizodermis uniestratificada, sin pelos radiculares, el córtex muestra una exodermis uniestratificada, la corteza presenta células parenquimáticas de tamaño variado, la endodermis y el periciclo son poco conspicuo, el cilindro vascular es de tipo monarca.

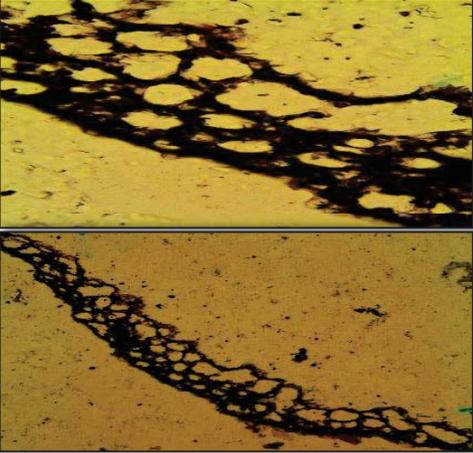
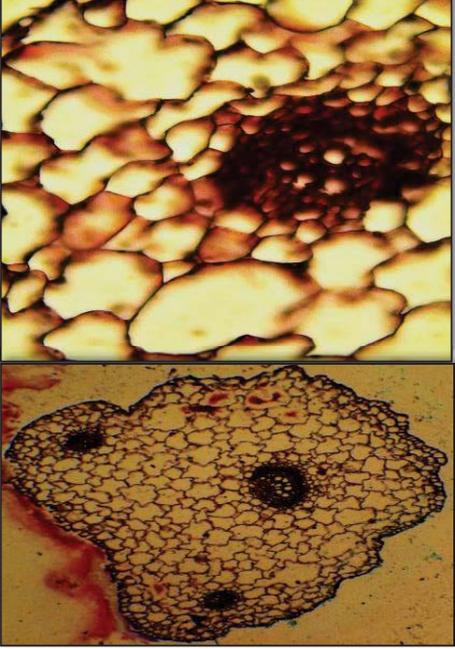
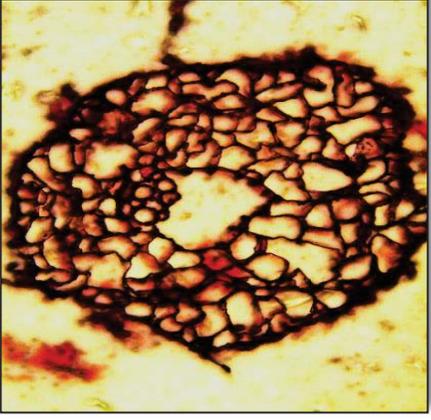
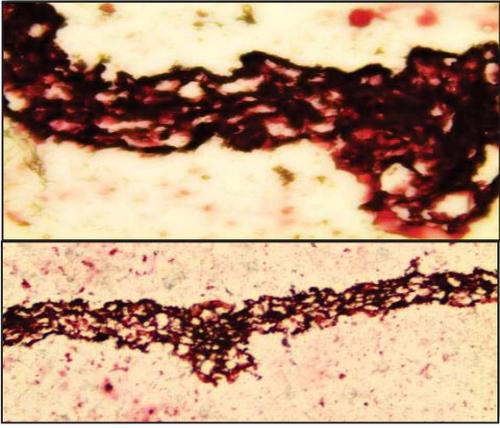
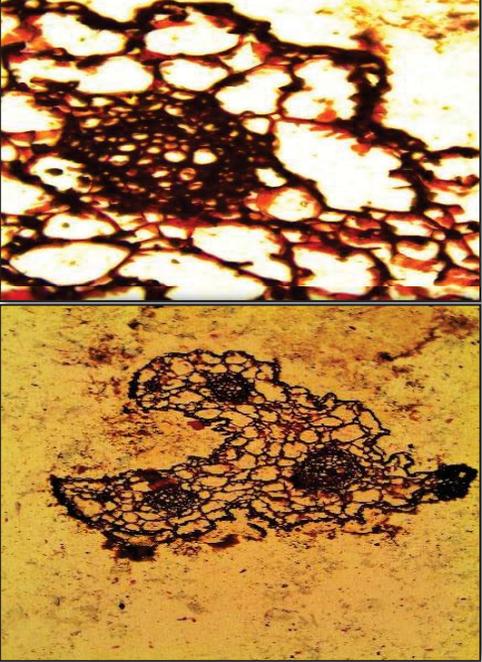
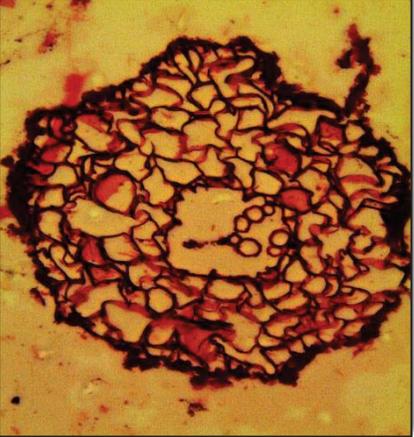
4.4.2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA MORFOLOGÍA INTERNA RAÍZ Y PARTE AÉREA (TALLOS Y HOJAS) DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides* DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO, MEDIANTE CORTES HISTOLÓGICOS.

Tabla N° 22 : CORTES TRANSVERSALES DE *Nasturtium officinale* PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAÍZ
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) CONTROL</p>		 	 
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) 0.1 ppm Hg²⁺</p>	 	 	 

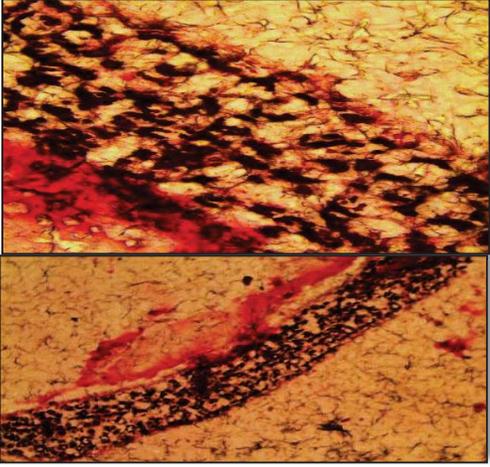
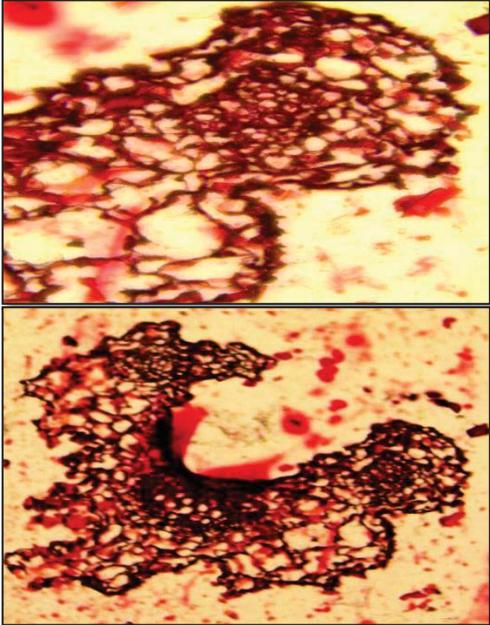
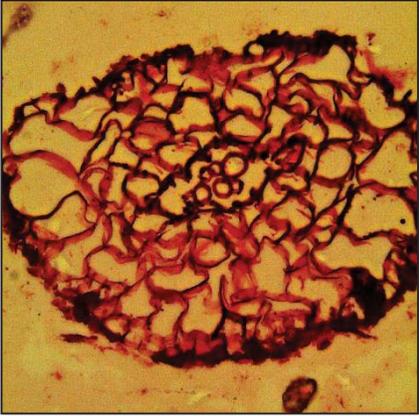
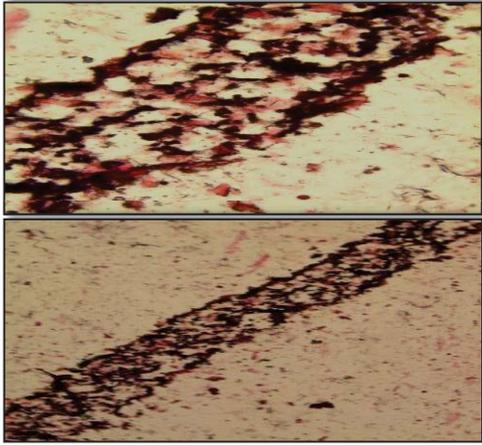
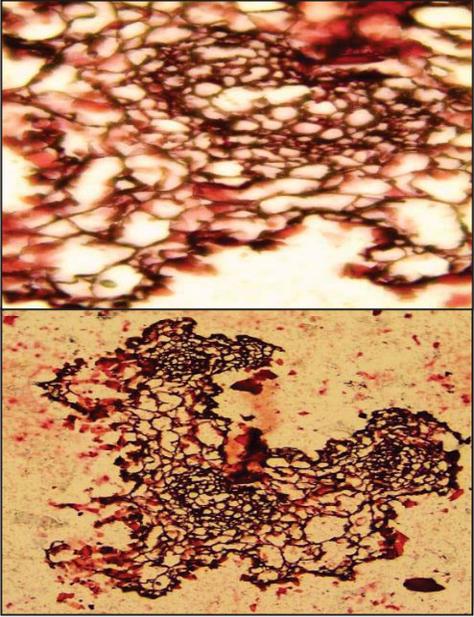
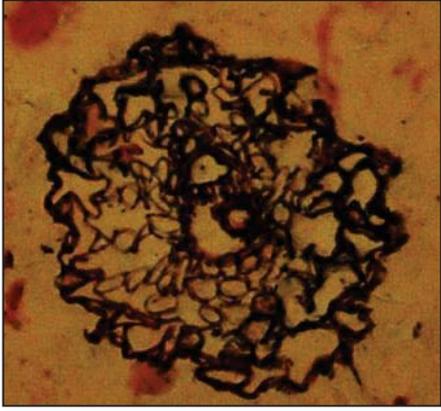
Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

CORTES TRANSVERSALES DE *Nasturtium officinale* PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAIZ
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) 0.5 ppm Hg²⁺</p>			
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) 1.0 ppm Hg²⁺</p>			

Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

CORTES TRANSVERSALES DE *Nasturtium officinale* PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAIZ
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) 2.0 ppm Hg²⁺</p>			
<p><i>Nasturtium officinale</i> (Berro) 5.0 ppm Hg²⁺</p>			

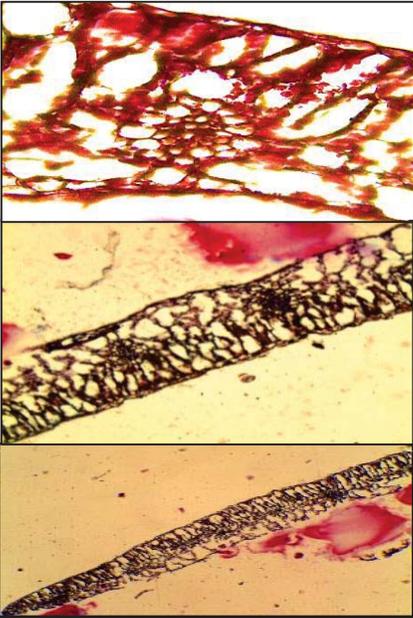
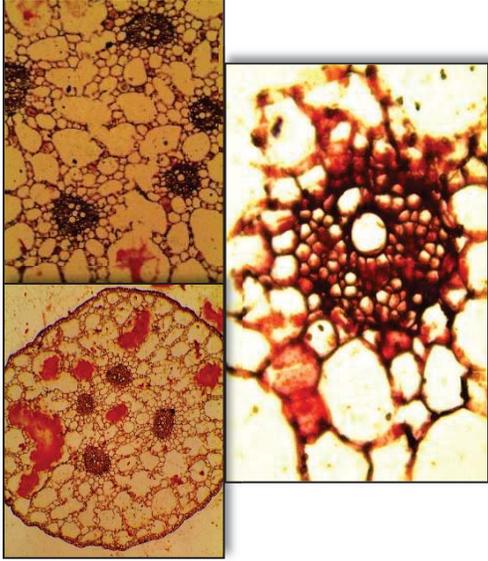
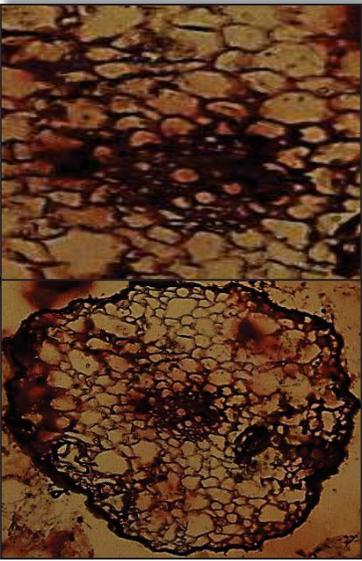
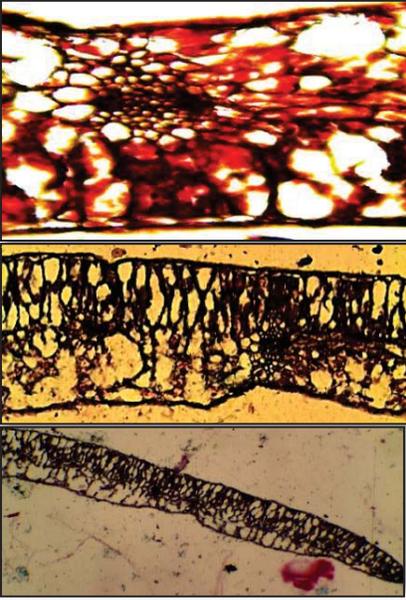
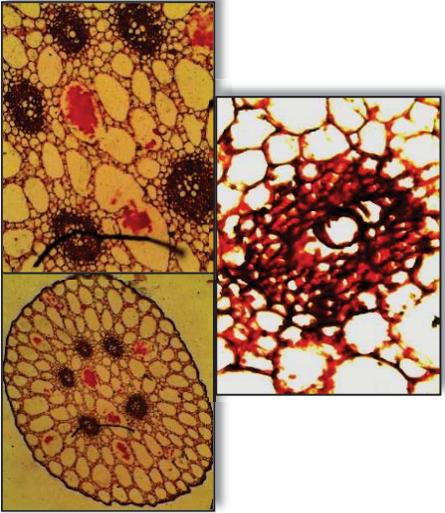
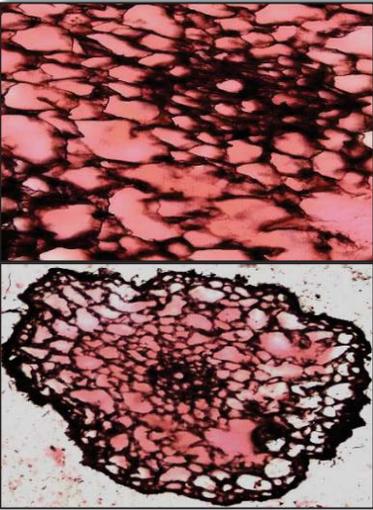
Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

ANÁLISIS

Para *N. officinale* (Berro) en un análisis comparativo del efecto de Hg^{2+} a diferentes concentraciones podemos mencionar que:

- En la concentración 0.1 y 0.5 ppm Hg^{2+} se observa que el mercurio no genera cambios en la estructura de hoja, tallo y raíz respecto al grupo control.
- En la concentración 1.0 ppm Hg^{2+} se observa que, en la hoja la lámina foliar presenta alteraciones en la forma y tamaño celular (reducción), y no se aprecia una epidermis intacta. En el tallo se observa un cambio en la forma cilíndrica tendiendo a formar invaginaciones centrípetas e inicio de desorganización y deformidad celular. A nivel radicular se aprecia una desorganización y amorfismo celular, con una leve necrosis en la médula central.
- En la concentración 2.0 ppm Hg^{2+} , en la hoja no se aprecia la diferenciación entre epidermis y mesófilo. El tallo muestra invaginaciones profundas con reducción del área del tallo, de la médula del córtex. A nivel radicular se observa hinchamiento de las células, la médula central ha desaparecido, encontrándose sólo las células del protoxilema.
- En la concentración 5.0 ppm Hg^{2+} se observan alteraciones mucho más drásticas, donde la lámina foliar presenta una indiferenciación total de las células tanto de la epidermis como del mesófilo, así como también un polimorfismo y necrosis. A nivel del tallo ya no se observa el periciclo, no se diferencia claramente los haces vasculares al igual que su organización celular, también presenta invaginaciones profundas y necrosis celular. En la raíz las células de la epidermis se observan discontinuas, desorganizadas y con necrosis.

Tabla N° 23 : CORTES TRANSVERSALES DE *Hydrocotyle ranunculoides* PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAIZ
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecello) CONTROL</p>			
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecello) 0.1 ppm Hg²⁺</p>			

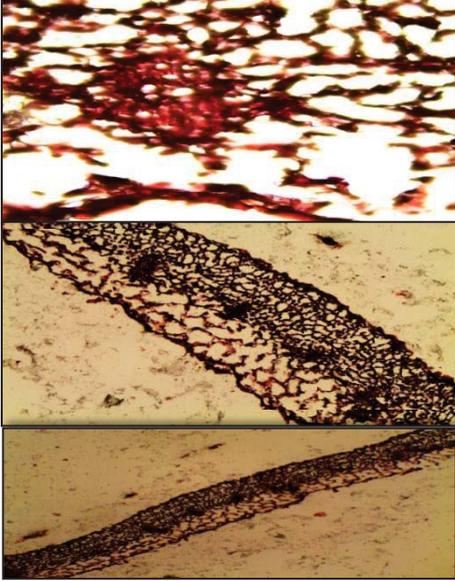
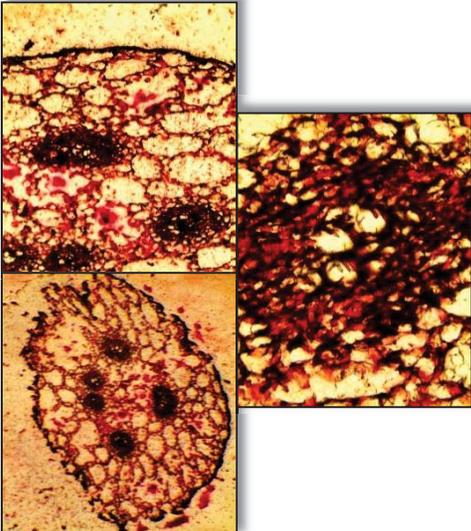
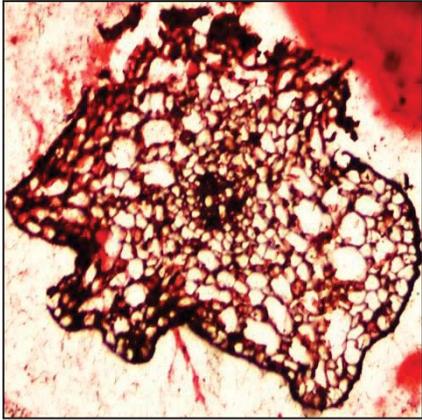
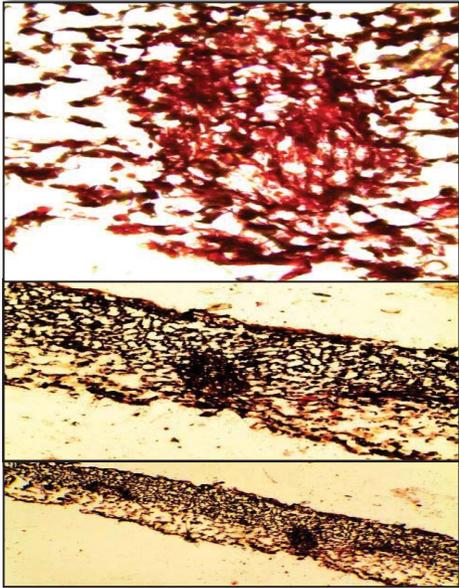
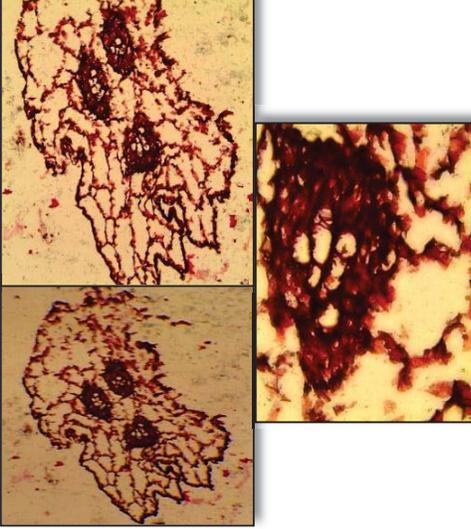
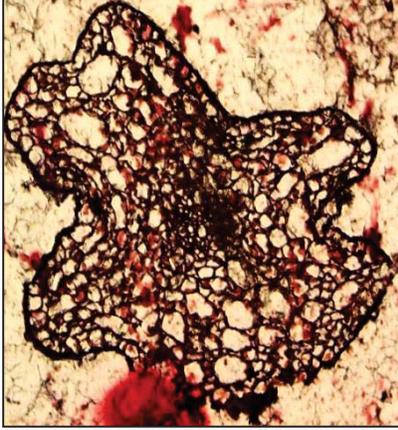
Fuente: Archivo fotográfico del trabajo de tesis

CORTES TRANSVERSALES DE *Hydrocotyle ranunculoides* DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAÍZ
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo) 0.5 ppm Hg²⁺</p>			
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo) 1.0 ppm Hg²⁺</p>			

Fuente: Archivo fotográfico de la tesis

CORTES TRANSVERSALES DE *Hydrocotyle ranunculoides* DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MERCURIO

	HOJA	TALLO	RAÍZ
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecello) 2.0 ppm Hg²⁺</p>			
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecello) 5.0 ppm Hg²⁺</p>			

Fuente: Archivo fotográfico de la tesis

ANÁLISIS

Para *H. ranunculoides* (Mateccllo) en un análisis comparativo del efecto del mercurio a diferentes concentraciones podemos mencionar que:

- En la concentración 0.1 y 0.5 ppm de mercurio se observa que este no genera cambios en la estructura de la hoja, tallo y raíz respecto al grupo control.
- En la concentración 1.0 ppm Hg^{2+} se observa que, en la hoja el parénquima lagunar y en empalizada presenta una ligera desorganización y necrosis celular. En el tallo se observa una desorganización de las células epidérmicas cuadrangulares y aerénquimas. A nivel radicular se observa una ligera necrosis de las células exodérmicas del córtex y continúan manteniendo el cilindro vascular de tipo monarca.
- En la concentración 2.0 ppm Hg^{2+} , la hoja presenta un parénquima lagunar con células amorfas y de tamaño reducido, el parénquima en empalizada muestra células amorfas y no se observa a la vaina de células parenquimáticas que rodean al haz vascular. En el tallo se observa necrosis, deformación y desorganización de las células epidérmicas, aerénquimas y haz vascular. A nivel radicular se observa una necrosis de las células exodérmicas corticales y del haz vascular.
- En la concentración 5.0 ppm Hg^{2+} , la hoja presenta un parénquima lagunar con necrosis y desorganización celular. El xilema, floema y células clorenquimáticas del haz vascular no se diferencian. En el tallo se observan invaginaciones centripetas, con células epidérmicas amorfas, desorganizadas y con necrosis, aerénquima indiferenciado y 3 haces vasculares. A nivel radicular se observan invaginaciones centripetas, células parenquimáticas reducidas y un cilindro vascular indiferenciado.

DISCUSIÓN

- A bajas concentraciones (0.1 y 0.5 ppm de mercurio) las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides* no muestran cambios en la morfología interna, demostrando así una capacidad de tolerancia y adaptación frente a este metal.
- A partir de la concentración 1.0 ppm Hg^{2+} , en *N. officinale* se observa que este provoca alteraciones a nivel de pared celular, membrana plasmática, sistema vascular y organización de los tejidos, en raíz y parte aérea. Esto se podría explicar debido a que el Hg^{2+} a nivel de la pared celular provoca trastornos enzimáticos en la biosíntesis de sus constituyentes, debido a cambios en el ensamblaje de los polímeros, disposición de los microtúbulos o al aumento de la adhesión celular de la lámina media (69). Según Navarro J., a nivel de la membrana plasmática el Hg^{2+} provoca daños mediante diferentes mecanismos como: oxidación y entrecruzamiento de proteínas (grupo tiol), inhibición de

las proteínas de membrana que son esenciales como por ejemplo la H⁺ - ATPasa, cambios en la permeabilidad, composición y fluidez de los lípidos de membrana. El Hg²⁺ sigue esencialmente la vía del xilema y en sus relaciones con las células vecinas pueden inducir cambios en la pauta de diferenciación del propio sistema vascular (70).

- De igual modo, a partir de la concentración 1.0 ppm Hg²⁺ se observa una indiferenciación de estratos debido a la inhibición del crecimiento celular, esto está relacionado con la disminución de la integridad de la membrana (flujo de iones), efectos en el citoplasma y en los orgánulos (disminución de la fotosíntesis y de la respiración), alteraciones de la actividad de enzimas, efectos en la pared celular (disminución de la síntesis del material de pared y reducción de extensibilidad), según Foy C. (46).
- A mayores concentraciones los daños son más severos produciendo la necrosis celular.

4.4.3 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE CLOROSIS Y NECROSIS EN RAÍZ Y PARTE AÉREA MEDIANTE LA OBSERVACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) DURANTE LA ETAPA DE CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

Tabla N° 24: CLOROSIS Y NECROSIS DE LAS ESPECIES VEGETALES

DÍA	<i>Nasturtium officinale</i>											<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>												
	Clorosis						Necrosis					Clorosis						Necrosis						
	CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm	CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm	CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm	CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	-	-	+	++	++	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	++
9	-	-	-	+	++	++	-	-	-	+	++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	++
10	-	-	-	+	++	++	-	-	-	+	++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	++
11	-	-	-	+	++	++	-	-	-	+	++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	+++
12	-	-	-	+	++	++	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	+++
13	-	-	-	+	++	++	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	+++
14	-	-	-	+	++	++	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	+++
15	-	-	-	+	++	++	-	-	-	++	+++	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+	+++

+++	Alta	+	Leve
++	Moderada	-	Ausencia

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS

En la tabla N° 24 se observa los resultados de la evaluación a las especies vegetales estudiadas antes, durante y después de la contaminación, donde se puede apreciar los síntomas visuales no específicos producidos por el Hg^{2+} , como son: clorosis y necrosis foliar. Estos síntomas se evidencian más a medida que las concentraciones de mercurio incrementan, por ejemplo la clorosis y necrosis se hace más evidente en las concentraciones 2.0 y 5.0 ppm para *N. officinale* y de 1.0, 2.0 y 5.0 ppm de Hg^{2+} para *H. ranunculoides*.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que, la clorosis en estas especies vegetales se debe por efecto del Hg^{2+} en el proceso de la fotosíntesis, esto ocurre porque este metal produce alteraciones en los cloroplastos, disminución en la tasa fotosintética, distorsión de la ultraestructura de los cloroplastos, restricción de síntesis de clorofila, plastoquinona y carotenoides, así como también obstrucción del transporte de electrones, inhibición de actividades enzimáticas del ciclo de Calvin y deficiencia del CO_2 como un resultado del cierre estomático (71).

El Hg^{2+} perjudica también la absorción de elementos esenciales tales como hierro y magnesio en plantas de pepino y como consecuencia inhibe la síntesis de clorofila según Burzynski (72). Estos daños de los aparatos fotosintéticos se deben a la afinidad del Hg^{2+} por ligandos de proteínas N- y S-. Asimismo se ha observado degradación de la clorofila debido al incremento de la actividad clorofilasa (71).

En una fase más avanzada de alteración se producen intensos cambios metabólicos y de regulación celular, y ocurre finalmente el estímulo de la senescencia por acumulación crónica del metal pesado (73).

4.4.4 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA MORFOMETRÍA

Tabla N° 25: EVALUACIÓN DE LA MORFOMETRÍA DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculooides* ANTES Y DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)														
Parámetro	MEDICIÓN ANTES DE LA CONTAMINACIÓN (cm)		GRUPO CONTROL (cm)		GRUPO I (0.1 PPM) (cm)		GRUPO II (0.5 PPM) (cm)		GRUPO III (1.0 PPM) (cm)		GRUPO IV (2.0 PPM) (cm)		GRUPO V (5.0 PPM) (cm)	
	MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD	
TALLA DE LA PLANTA	22.20 / ± 0.06		24.77 / ± 0.03		24.63 / ± 0.03		24.50 / ± 0.05		24.28 / ± 0.05		23.53 / ± 0.04		22.98 / ± 0.05	
LONGITUD DEL TALLO	18.18 / ± 0.05		20.72 / ± 0.08		20.73 / ± 0.06		20.65 / ± 0.08		20.34 / ± 0.05		19.88 / ± 0.06		18.47 / ± 0.05	
DIÁMETRO DEL TALLO	0.95 / ± 0.05		1.33 / ± 0.03		1.31 / ± 0.03		1.31 / ± 0.04		1.29 / ± 0.04		1.23 / ± 0.06		1.10 / ± 0.08	
LONGITUD DE RAÍZ	11.96 / ± 0.10		17.04 / ± 0.12		17.03 / ± 0.10		17.05 / ± 0.10		16.89 / ± 0.10		16.53 / ± 0.08		12.46 / ± 0.08	
LONGITUD DE HOJAS	1.49 / ± 0.03		1.90 / ± 0.06		1.89 / ± 0.05		1.88 / ± 0.50		1.86 / ± 0.05		1.73 / ± 0.05		1.54 / ± 0.04	
ANCHO DE HOJAS	1.69 / ± 0.02		2.10 / ± 0.05		2.09 / ± 0.04		2.09 / ± 0.05		2.06 / ± 0.05		1.92 / ± 0.04		1.70 / ± 0.03	

<i>Hydrocotyle ranunculooides</i> (Matecillo)														
Parámetro	MEDICIÓN ANTES DE LA CONTAMINACIÓN (cm)		GRUPO CONTROL (cm)		GRUPO I (0.1 PPM) (cm)		GRUPO II (0.5 PPM) (cm)		GRUPO III (1.0 PPM) (cm)		GRUPO IV (2.0 PPM) (cm)		GRUPO V (5.0 PPM) (cm)	
	MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD		MEDIA / SD	
TALLA DE LA PLANTA	13.14 / ± 0.05		15.71 / ± 0.03		15.58 / ± 0.05		15.44 / ± 0.03		15.22 / ± 0.03		14.48 / ± 0.05		13.92 / ± 0.02	
LONGITUD DEL TALLO	9.13 / ± 0.08		11.66 / ± 0.03		11.67 / ± 0.05		11.59 / ± 0.02		11.28 / ± 0.05		11.04 / ± 0.08		9.41 / ± 0.10	
DIÁMETRO DEL TALLO	1.28 / ± 0.03		1.66 / ± 0.01		1.64 / ± 0.04		1.64 / ± 0.03		1.61 / ± 0.02		1.55 / ± 0.04		1.43 / ± 0.04	
LONGITUD DE RAÍZ	4.01 / ± 0.05		9.09 / ± 0.02		9.08 / ± 0.05		9.10 / ± 0.03		8.94 / ± 0.08		8.57 / ± 0.05		4.50 / ± 0.05	
LONGITUD DE HOJAS	2.11 / ± 0.06		3.04 / ± 0.06		3.03 / ± 0.04		3.00 / ± 0.03		2.98 / ± 0.05		2.71 / ± 0.04		2.24 / ± 0.09	
ANCHO DE HOJAS	2.48 / ± 0.05		2.23 / ± 0.02		3.23 / ± 0.02		3.21 / ± 0.02		3.16 / ± 0.02		2.97 / ± 0.03		2.58 / ± 0.04	

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS

En la tabla N° 25, se observa los resultados de la evaluación a las especies vegetales estudiadas antes, durante y después de la contaminación, donde se puede apreciar los síntomas visuales no específicos producidos por el Hg^{2+} , como son: inhibición del crecimiento radicular y reducción del área foliar. Estos síntomas se evidencian más a medida que las concentraciones de mercurio incrementan, por ejemplo la disminución del crecimiento se hace más evidente en las concentraciones 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} para *N. officinale* y de 1.0, 2.0 y 5.0 ppm para *H. ranunculoides*.

DISCUSIÓN

Los metales pesados al ingresar en las plantas pueden alterar diversos procesos metabólicos trayendo como consecuencia variadas respuestas biológicas a nivel bioquímico, celular y fisiológico manifestándose en el crecimiento y desarrollo de las plantas (75).

La longitud de las raíces, tallos y hojas de *N. officinale* e *H. ranunculoides* disminuyen significativamente después de ser contaminadas con Hg^{2+} a las concentraciones de 1.0, 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} durante 15 días respecto al grupo control. Esta tendencia también ha sido observada en raíces de *Pisum sativum* y *Mentha spicata* cultivadas con 5000 ug/L de $HgCl_2$, según Barceló J. (44).

La inhibición del crecimiento radicular de estas especies vegetales podría deberse a la inhibición de la proliferación celular y la muerte de las células de los meristemos apicales, así como a la alteración de la permeabilidad de las membranas celulares, por la unión de los iones de Hg^{2+} a grupos sulfhidrilos de proteínas y a la parte hidrofílica de fosfolípidos, afectando la homeostasis iónica y la subsecuente alteración de la actividad de enzimas cruciales en el metabolismo de las plantas (76, 77).

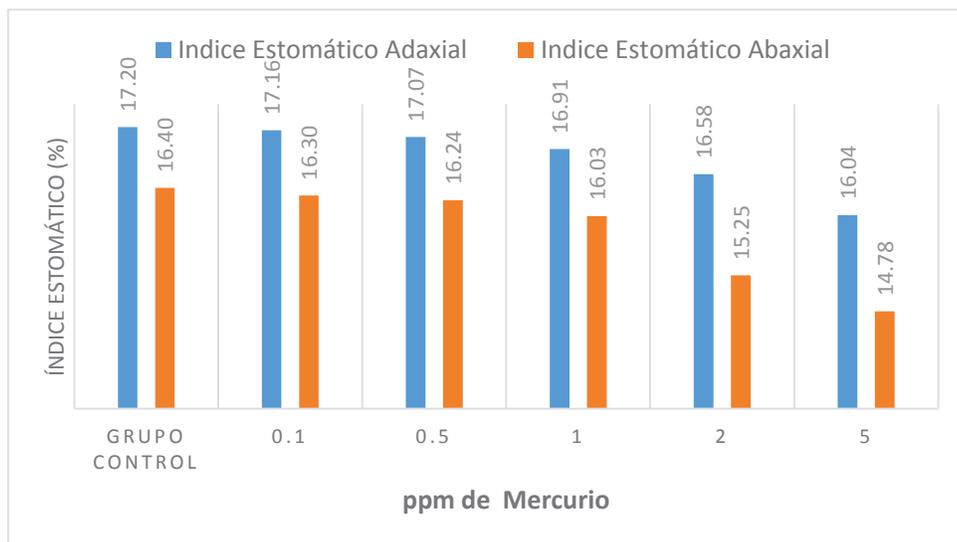
4.4.5 EVALUACIÓN DEL ÍNDICE Y DENSIDAD ESTOMÁTICA

Tabla N° 26: Determinación del índice y densidad estomática de *Nasturtium officinale* (Berro) E *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo)

CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)			
	Índice estomático Adaxial (%)	Densidad estomática Adaxial	Índice estomático Abaxial (%)	Densidad estomática Abaxial
Control	18.96	553.59/ 129.558 estomas /mm ²	19.62	591.99/ 144.48 estomas /mm ²
0.1	18.95	552.48/ 129.282 estomas /mm ²	19.61	589.78/ 143.92 estomas /mm ²
0.5	18.94	552.21/ 129.01 estomas /mm ²	19.60	588.95/ 143.65 estomas /mm ²
1.0	18.86	546.69/ 127.07 estomas /mm ²	19.58	586.46/ 142.82 estomas /mm ²
2.0	18.70	535.91/ 123.20 estomas /mm ²	19.49	584.53/ 141.44 estomas /mm ²
5.0	18.46	518.23/ 117.40 estomas /mm ²	19.28	564.37/ 134.81 estomas /mm ²
CONCENTRACIÓN DE MERCURIO (ppm)	<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)			
	Índice estomático Adaxial (%)	Densidad estomática Adaxial	Índice estomático Abaxial (%)	Densidad estomática Abaxial
Control	17.20	1416.298 / 294.199 estomas /mm ²	16.40	1357.46/ 266.30 estomas /mm ²
0.1	17.16	1403.867/ 290.884 estomas /mm ²	16.30	1344.75/ 261.88 estomas /mm ²
0.5	17.07	1368.508/ 281.768 estomas /mm ²	16.24	1306.63/ 253.32 estomas /mm ²
1.0	16.91	1308.564/ 266.298 estomas /mm ²	16.03	1270.99/ 242.54 estomas /mm ²
2.0	16.58	1293.923/ 257.182 estomas /mm ²	15.25	1221.82/ 219.89 estomas /mm ²
5.0	16.04	1267.956/ 242.265 estomas /mm ²	14.78	1211.88/ 210.22 estomas /mm ²

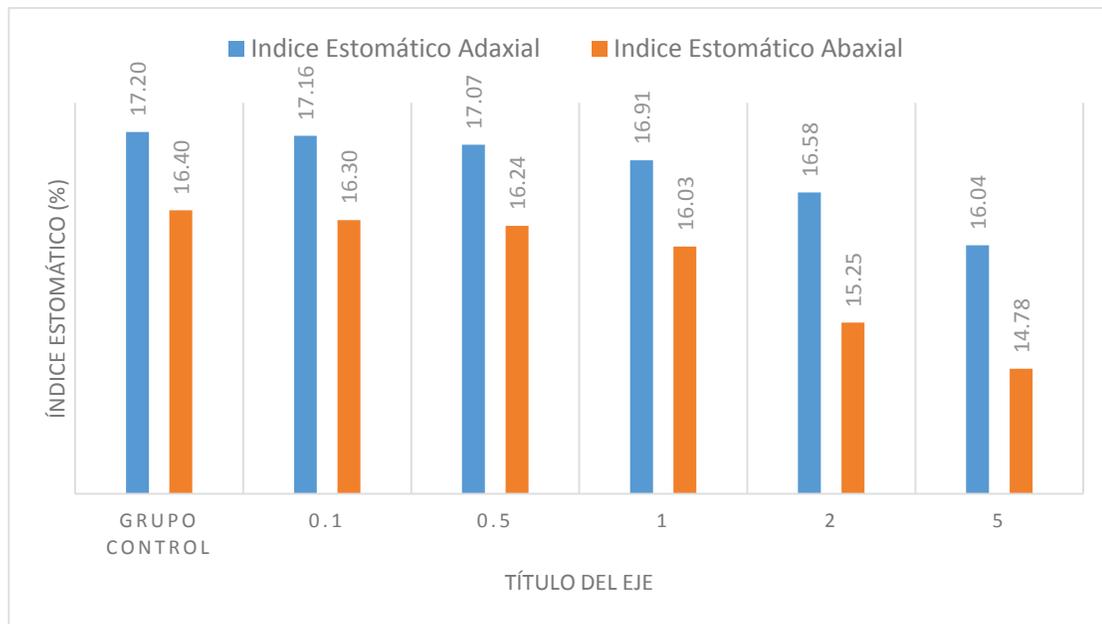
Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 7: COMPARACIÓN ENTRE ÍNDICE ESTOMÁTICO ADAXIAL Y ABAXIAL DE *Nasturtium officinale* (Berro)



Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 8: COMPARACIÓN ENTRE ÍNDICE ESTOMÁTICO ADAXIAL Y ABAXIAL DE *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)



Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS

En los gráficos N° 7 y 8 se observan las diferencias del índice estomático adaxial y abaxial de las especies vegetales *N. officinale* e *H. ranunculoides*.

DISCUSIÓN

En la tabla N° 26 se observa los resultados del índice y densidad estomática cuantificados en ambas caras (adaxial y abaxial), ya que estas especies son anfiestomáticas. En esta se observa que a medida que incrementan las concentraciones de Hg²⁺, ambos factores disminuyen frente al grupo control. Bethke y Drew mencionan que, la transpiración y la intensidad de la respiración están en razón directa al número y abertura de los estomas y como las hojas son los principales órganos de las plantas donde se realiza la fotosíntesis, la cantidad y distribución de los estomas influyen directamente sobre la asimilación clorofílica, señalando que la disminución de la cantidad de estomas por mm² incrementa la resistencia estomática de la planta y de esta manera evita un exceso de transpiración; sin embargo, tanto la densidad estomática (DE) como el índice estomático (IE) son tan variables que están fuertemente influenciadas por diversas condiciones estresantes como condiciones de sequía y altas concentraciones salinas (74).

4.5 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)

4.5.1 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) ANTES DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

Tabla N° 27: ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES

		NÚMERO DE MUESTRAS	<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)	<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Mateccllo)
PARÁMETRO (%)			Media / DS	Media / DS
RAÍZ	HUMEDAD	3	94.865 / ± 0.003	94.824 / ± 0.003
	CENIZAS	3	1.235 / ± 0.002	1.204 / ± 0.014
	PROTEÍNAS	3	1.163 / ± 0.003	1.230 / ± 0.010
	GRASAS	3	0.108 / ± 0.003	0.120 / ± 0.010
	FIBRA	3	0.107 / ± 0.007	0.108 / ± 0.003
	CARBOHIDRATOS	3	2.521 / ± 0.005	2.514 / ± 0.019
PARTE AÉREA	HUMEDAD	3	94.831 / ± 0.006	93.700 / ± 0.010
	CENIZAS	3	1.411 / ± 0.003	1.457 / ± 0.006
	PROTEÍNAS	3	1.218 / ± 0.003	1.963 / ± 0.006
	GRASAS	3	0.120 / ± 0.003	0.144 / ± 0.007
	FIBRA	3	0.121 / ± 0.004	0.119 / ± 0.002
	CARBOHIDRATOS	3	2.298 / ± 0.010	2.615 / ± 0.011

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 27 se presentan los valores del análisis proximal realizado antes de la etapa de contaminación con mercurio, los cuales corresponden a la media obtenida del análisis de 3 mediciones. Estos valores están expresados por 1 g de muestra fresca.

En la composición química de estas especies vegetales se observa que la parte aérea presenta un mayor porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasas y fibra en relación a la raíz. En cuanto al porcentaje de carbohidratos, la raíz de *N. officinale* presenta un ligero incremento, mientras que en el *H. ranunculoides* ocurre lo contrario.

4.5.2 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

Tabla N° 28: ANÁLISIS PROXIMAL DE *Nasturtium officinale* (Berro) DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

		<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)											
		Concentración de mercurio (ppm)											
PARÁMETRO (%)	NÚMERO DE MUESTRAS	Control		0.1 ppm		0.5 ppm		1.0 ppm		2.0 ppm		5.0 ppm	
		Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS
HUMEDAD	3	94.861 / ± 0.020	94.803 / ± 0.005	94.721 / ± 0.016	93.835 / ± 0.047	93.148 / ± 0.026	92.734 / ± 0.017						
CENIZAS	3	1.250 / ± 0.017	1.231 / ± 0.021	1.224 / ± 0.022	1.160 / ± 0.016	1.081 / ± 0.011	1.005 / ± 0.005						
PROTEÍNAS	3	1.160 / ± 0.030	1.151 / ± 0.027	1.149 / ± 0.004	1.099 / ± 0.004	0.987 / ± 0.006	0.879 / ± 0.008						
GRASAS	3	0.107 / ± 0.006	0.103 / ± 0.006	0.100 / ± 0.010	0.083 / ± 0.006	0.063 / ± 0.006	0.053 / ± 0.006						
FIBRA	3	0.106 / ± 0.012	0.105 / ± 0.006	0.105 / ± 0.012	0.100 / ± 0.006	0.097 / ± 0.012	0.094 / ± 0.006						
CARBOHIDRATOS	3	2.532 / ± 0.032	2.542 / ± 0.032	2.55 / ± 0.053	3.101 / ± 0.027	4.621 / ± 0.008	5.23 / ± 0.008						
HUMEDAD	3	94.83 / ± 0.035	94.760 / ± 0.068	94.753 / ± 0.031	93.518 / ± 0.021	92.950 / ± 0.020	92.634 / ± 0.028						
CENIZAS	3	1.407 / ± 0.042	1.370 / ± 0.020	1.320 / ± 0.010	1.153 / ± 0.038	1.060 / ± 0.010	1.001 / ± 0.009						
PROTEÍNAS	3	1.210 / ± 0.020	1.197 / ± 0.006	1.185 / ± 0.007	1.073 / ± 0.028	1.017 / ± 0.015	0.983 / ± 0.006						
GRASAS	3	0.120 / ± 0.010	0.110 / ± 0.020	0.100 / ± 0.000	0.077 / ± 0.006	0.067 / ± 0.006	0.060 / ± 0.000						
FIBRA	3	0.107 / ± 0.012	0.106 / ± 0.012	0.107 / ± 0.006	0.102 / ± 0.006	0.098 / ± 0.006	0.094 / ± 0.006						
CARBOHIDRATOS	3	2.320 / ± 0.062	2.457 / ± 0.055	2.534 / ± 0.023	4.076 / ± 0.079	4.808 / ± 0.012	5.182 / ± 0.038						

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 29: ANÁLISIS PROXIMAL DE *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) DESPUÉS DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)												
		Concentración de mercurio (ppm)										
PARÁMETRO (%)	NÚMERO DE MUESTRAS	Control	0.1 ppm		0.5 ppm		1.0 ppm		2.0 ppm		5.0 ppm	
		Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS	Media / DS
RAÍZ	HUMEDAD	94.813 / ± 0.015	94.783 / ± 0.032	94.621 / ± 0.011	93.734 / ± 0.054	93.054 / ± 0.035	92.922 / ± 0.014					
	CENIZAS	1.190 / ± 0.012	1.183 / ± 0.015	1.167 / ± 0.006	1.050 / ± 0.050	1.000 / ± 0.030	0.963 / ± 0.015					
	PROTEÍNAS	1.217 / ± 0.029	1.198 / ± 0.003	1.189 / ± 0.017	1.090 / ± 0.022	1.036 / ± 0.018	0.989 / ± 0.008					
	GRASAS	0.120 / ± 0.010	0.110 / ± 0.017	0.097 / ± 0.006	0.077 / ± 0.006	0.067 / ± 0.006	0.063 / ± 0.006					
	FIBRA	0.100 / ± 0.012	0.098 / ± 0.003	0.098 / ± 0.006	0.093 / ± 0.006	0.089 / ± 0.006	0.085 / ± 0.005					
	CARBOHIDRATOS	2.553 / ± 0.006	2.627 / ± 0.054	2.823 / ± 0.014	3.933 / ± 0.092	4.748 / ± 0.011	4.978 / ± 0.002					
	HUMEDAD	93.663 / ± 0.012	93.607 / ± 0.045	93.450 / ± 0.017	92.747 / ± 0.023	92.223 / ± 0.025	91.848 / ± 0.044					
	CENIZAS	1.437 / ± 0.012	1.417 / ± 0.015	1.398 / ± 0.003	1.237 / ± 0.015	1.185 / ± 0.014	1.170 / ± 0.010					
	PROTEÍNAS	1.943 / ± 0.012	1.931 / ± 0.002	1.910 / ± 0.011	1.543 / ± 0.023	1.134 / ± 0.030	1.099 / ± 0.040					
	GRASAS	0.143 / ± 0.012	0.117 / ± 0.006	0.117 / ± 0.006	0.090 / ± 0.010	0.077 / ± 0.012	0.076 / ± 0.004					
FIBRA	0.118 / ± 0.010	0.115 / ± 0.015	0.116 / ± 0.006	0.113 / ± 0.010	0.108 / ± 0.006	0.106 / ± 0.006						
CARBOHIDRATOS	2.695 / ± 0.035	2.814 / ± 0.017	3.009 / ± 0.010	4.270 / ± 0.035	5.273 / ± 0.032	5.704 / ± 0.021						
PARTE AÉREA												

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En las tablas N° 28 y 29 se muestran los resultados del análisis proximal de *N. officinale* e *H. ranunculoides* después de la contaminación con mercurio, donde se observa una disminución en cuanto al porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasas, fibra y un incremento en el porcentaje de carbohidratos para ambos.

- A las concentraciones de 0.1 y 0.5 ppm Hg^{2+} los porcentajes de humedad, ceniza, proteínas, grasas, fibra en raíz y parte aérea disminuyeron y los porcentajes de carbohidratos incrementaron ambos ligeramente respecto al grupo control. Por lo que podemos decir que, a estas concentraciones el Hg^{2+} no provoca cambios significativos en la planta, demostrando así una capacidad de tolerancia y adaptación a estas concentraciones.
- A las concentraciones 1.0, 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} se muestra una elevada disminución en el porcentaje de humedad en raíz, que puede deberse al estrés oxidativo inducido por el Hg^{2+} , lo que produce una inhibición en los canales de agua y la disminución de la conductividad hidráulica desde la raíz hasta las hojas y además puede limitar el crecimiento de las raíces que están sometidas a estrés hídrico, como refieren Zhongjiin Lu y Neumann. Se ha demostrado también que los iones de Hg^{2+} inhiben rápidamente el transporte de agua a través de las raíces aisladas de plantas de cereales como maíz y trigo (75).
- En la parte aérea al igual que la raíz hay disminución del porcentaje de humedad con respecto al grupo control. Esto debido a que el Hg^{2+} disminuye el transporte de la conductividad hidráulica desde la raíz hasta las hojas mediante la inhibición de los canales de agua, ocasionando así un estrés hídrico y cierre estomático como refieren Zhang y Tyerman (78).
- Para el porcentaje de cenizas se muestra una ligera disminución tanto en la raíz como en la parte aérea. Esto podría estar relacionado a que el Hg^{2+} altera los niveles de elementos minerales debido a que bloquea la entrada de cationes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+}) y aniones (NO_3^-) en el sitio de absorción de las raíces, esto se relaciona con el tamaño de los radios iónicos del metal (79, 80).
- Para el porcentaje de proteínas nuestros resultados muestran una disminución a medida que se incrementa la concentración de Hg^{2+} , esto se puede explicar debido a que el Hg^{2+} forma mercáptidos con el grupo (-SH) de la cisteína, complejos con los grupos fosfatos e incremento de la actividad enzimática (proteasas), provocando así una acelerada hidrólisis de proteínas, esto según Jana y Choudhuri. Al igual que

la raíz, la parte aérea muestra una disminución de 0.013, 0.025, 0.137, 0.193 y 0.227 % en relación al grupo control, esto debido a los mismos mecanismos de fitotoxicidad que ocurren en la raíz (81).

- Para el porcentaje de grasas, nuestros resultados muestran un decremento tanto en la raíz como en la parte aérea a las diferentes concentraciones de Hg^{2+} , esto debido a que éste altera la proporción de lípidos membranales en el tejido foliar, observándose una marcada reducción en el contenido de los glucolípidos Monogalactosil Diacilglicerol (MGDG) y Digalactosil Diacilglicerol (DGDG), así como un incremento de los fosfolípidos Fosfatidilcolina (FC) y Fosfatidiletanolamina (FE) (81). A nivel de raíz, se observa una reducción en el contenido de esteroides totales, principalmente el sitosterol, sin embargo, el contenido de estigmasterol presenta un incremento. Adicionalmente, se presenta una disminución en el contenido de FE y FC. De forma general, el Hg^{2+} causa una reducción en el contenido de lípidos totales (81).
- Para el porcentaje de carbohidratos, nuestros resultados muestran un incremento tanto en la raíz como en la parte aérea a las diferentes concentraciones de Hg^{2+} , esto se puede explicar debido a que este produce una disminución en el transporte de sacarosa, debido a que el Hg^{2+} se une fuertemente a los grupos carboxilo de los carbohidratos del ácido galacturónico y del ácido glucorónico en la pared celular, lo cual restringe su transporte vía apoplasto, por lo tanto provoca una acumulación en hojas y raíces (73).
- Asimismo, Devi R. halló un aumento del 10-20 % en el contenido de sacarosa al cabo de siete días en plantas de guisante (*Pisum sativum L.*) (82). La explicación de estas respuestas puede deberse a una serie de mecanismos de defensa no específicos los cuales son activados cuando las plantas son expuestas a contaminación por plomo. Estos incluyen la síntesis de osmolitos, entre los cuales se encuentran la glucosa y la prolina (73).

CONCLUSIONES

1. Se evaluó la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) en relación a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones, concluyendo que la capacidad fitorremediadora dependerá de la especie vegetal y la concentración de mercurio que se encuentre en el agua, por lo tanto la especie vegetal con mayor capacidad fitorremediadora fue *N. officinale* con un factor de bioacumulación > 1000 mg/L hasta la concentración de 2.0 ppm Hg^{2+} , mientras que *H. ranunculoides* obtuvo un factor de bioacumulación > 1000 mg/L hasta la concentración 1.0 ppm Hg^{2+} .
2. Se determinó la concentración final de mercurio en raíz y parte aérea (hojas y tallos), de las especies vegetales *N. officinale* (Berro) e *H. ranunculoides* (Mateccllo), donde se observó que la absorción de mercurio predominó en la mayoría de las concentraciones
3. Se determinó la concentración final de mercurio en agua, encontrándose en los diferentes tratamientos una disminución de la concentración de mercurio.
4. Se determinó el factor de bioacumulación (BAF) de las especies vegetales *N. officinale* (Berro) e *H. ranunculoides* (Mateccllo) por relación entre la concentración total de mercurio en la especie vegetal y la concentración final total de mercurio en agua, observándose que a concentraciones: 0.1, 0.5, 1.0 y 2.0 ppm Hg^{2+} para *N. Officinale* son > 1000 mg/L, indicando así que a estas concentraciones esta planta es acumuladora, mientras que a la concentración de 5.0 ppm Hg^{2+} es tolerante. Para *H. ranunculoides* a concentraciones: 0.1, 0.5 y 1.0 ppm Hg^{2+} son > 1000 mg/L, considerándola como acumuladora a estas concentraciones, mientras que para 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} son tolerantes.
5. Se determinó el factor de traslocación de las especies vegetales *N. officinale* (Berro) e *H. ranunculoides* (Mateccllo) por relación entre la concentración total de mercurio en la parte aérea y la concentración total de mercurio en la raíz, encontrándose que a concentraciones: 0.1, 0.5 y 1.0 ppm Hg^{2+} para *N. officinale* es > 1 mg/L, indicando así que a estas concentraciones el mercurio se encuentra también en la parte aérea, mientras que a concentraciones 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} el mercurio permanece en mayor proporción en la raíz. En las concentraciones 0.1 y 0.5 ppm Hg^{2+} para *H. ranunculoides* el FT es > 1 mg/L, indicando que el mercurio se encuentra también en la parte aérea, mientras que para las concentraciones 1.0, 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+} el mercurio se encuentra en mayor proporción en la raíz.
6. Se caracterizó la morfología interna de raíz y parte aérea (tallos y hojas) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) antes y después de la experimentación, mediante cortes histológicos, encontrándose alteraciones

a nivel de la pared celular y organización de tejidos a medida que la concentración de mercurio incrementa, hasta llegar a una senescencia celular.

7. Se evaluó la presencia de clorosis y necrosis foliar mediante la observación de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) antes, durante y después de la contaminación con mercurio, se evaluó también la morfometría de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo), encontrándose que la longitud de raíz, tallo y hojas disminuyeron significativamente. La presencia o ausencia de estos síntomas visuales dependen del tiempo de exposición y de la concentración de mercurio.
8. Se realizó el análisis proximal de la especie vegetal *Nasturtium officinale* (Berro) en raíz y parte aérea (tallos y hojas) antes y después de la contaminación con mercurio, observándose en la raíz, la disminución del porcentaje de humedad en un 2.13 %, cenizas 0.25 %, proteínas 0.281 %, grasas 0.05% y fibra 0.01 % a medida que se incrementa la concentración del mercurio y el porcentaje de carbohidratos incrementó en un 2.70 %, en comparación al grupo control. Mientras que para la parte aérea la disminución en el porcentaje de humedad fue 1.87 %, cenizas 0.41 %, proteínas 0.23%, grasas 0.06 % y fibra 0.01% y un incremento de 2.86 % para carbohidratos.
9. Se realizó el análisis proximal de la especie vegetal *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) en raíz y parte aérea (tallos y hojas) antes y después de la experimentación, observándose en la raíz, la disminución del porcentaje de humedad en un 1.89 %, cenizas 0.23%, proteínas 0.34 %, 0.06 % grasas y 0.02 % fibra a medida que se incrementa la concentración del mercurio; mientras que el porcentaje de carbohidratos incrementó en un 2.43 %, en comparación al grupo control. Mientras que para la parte aérea la disminución en el porcentaje de humedad fue 1.82 %, cenizas 0.27 %, proteínas 0.844%, grasas 0.07 % y fibra 0.01 % y un incremento de 3.01 % para carbohidratos.

SUGERENCIAS

A LAS MUNICIPALIDADES DE LA REGIÓN DEL CUSCO

- Implementar sistemas de humedales artificiales con estas especies vegetales para el tratamiento de aguas contaminadas con mercurio.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- Seguir motivando económicamente a la realización de proyectos de investigación en relación al uso de las plantas de la región del Cusco como fitorremediadoras.

A LOS DOCENTE DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Incentivar a los alumnos al estudio de plantas desde un punto de vista biotecnológico.

A LOS ALUMNOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- A los alumnos interesados en estos temas profundizar sus conocimientos en relación a la fitotoxicidad causada por metales pesados y así darle otra aplicación a las plantas de la región del Cusco como fitorremediadoras.
- Evaluar la capacidad fitorremediadora de estas especies vegetales frente a otros metales pesados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Cabo S. M., Frers C. El uso de plantas acuáticas para el tratamiento de aguas residuales. Observatorio Medioambiental, Universidad Complutense de Madrid España (UCM) [Internet]. 2008 [Citado 10 de enero 2016]. vol. (11) 301-305. Disponible en: <https://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/download/213>
- 2) Cubero D., Vieira M. Abono orgánicos y fertilizantes químicos, son compatibles con la agricultura. Conferencia 77: Manejo de la nutrición y fertilización del cultivo del café orgánico. Costa Rica. [Internet]. 1999 [Citado 12 de enero 2016]. vol. (1) 61-67. Disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_061.pdf
- 3) Pinto H. H., Contaminación ambiental en Tintaya. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Investigaciones sociales Lima-Perú [Internet] 2014. [Citado 12 enero 2016]; Vol.18 (33) 201-216. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/sociales/article/download/10994/9891>.
- 4) Gisbert Calabuig Juan Antonio "Medicina Legal y Toxicología "- 5ta Edición, - Editorial MASSON S.A. -España 2001.
- 5) Comunicación intercultural para un mundo humano y diverso (SERVINDI). El flagelo del mercurio en Indonesia. [Homepage en Internet]. Perú: 2005 [actualizado 3 de junio, 2016; citado 25 julio 2016]. Disponible en: <https://www.servindi.org/actualidad-noticias/03/06/2016/el-flagelo-del-mercurio-en-indonesia>.
- 6) Marín M. J. P. Correa R. J.C. Evaluación de la remoción de contaminantes en aguas residuales en humedales artificiales utilizando la Guadua angustifolia Kunth [Tesis], Colombia Universidad Tecnológica de Pereira facultad de Tecnología Escuela de Tecnología Química Pereira. 2010. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/1801/6283M337.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 7) García I., Dorronsoro, C. Contaminación por Metales Pesados en Tecnología de Suelos, [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada - España, Departamento de Edafología y Química Agrícola, 2005. Disponible en: <http://0-hera.ugr.es.adrastea.ugr.es/tesisugr/16526946.pdf>
- 8) Santos Cirujano, Ana Meco Molina, Flora acuática-macrófitos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Jardín Botánico - España [Internet], 2002 [Consultado 2 de febrero 2016]. Disponible en:

http://www.magrama.gob.es/es/agua/formacion/06-Macrofitos-Santos_Cirujano_tcm7-174291.pdf

- 9) Peña H., Cuesta. F, Betancur J. Remoción de carga contaminante en aguas residuales industriales a escala de laboratorio. Universidad de Manizales. Revista de Investigación Agraria y Ambiental. Colombia. [Internet] 2015. [Citado 10 de enero 2016]. Vol. (6) 157-168. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5628789.pdf>
- 10) Zarazúa G., Ávila P., Tejeda S., Valdivia M., Zepeda C., Macedo G. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. México [Internet] 2013. [Citado 22 de Febrero 2016]. Vol. (29) 17-24. Disponible en: <http://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/36519/37490>
- 11) Arenas A. D, Lué M. M, Torres G., Evaluación de la planta *Lemna minor* como biorremediadora de aguas contaminadas con mercurio. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado Estado Lara, Venezuela. Redalyc: Avances en Ciencias e Ingeniería (ACI), La Serena Chile. [Internet] 2011 [Citado 10 de febrero 2016]; VOL. 2(3): 1-11. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3236/323627683001.pdf>
- 12) Torres C. J. Fitorremediación de aguas residuales por hidroponía [Tesis Maestría], México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Superior de Ingeniería Y Arquitectura Unidad Zacatenco; 2010. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/5721/jes%c3%9as%20torres%20calder%c3%93n.pdf?sequence=1>
- 13) Fatih D., Zeliha L., Evaluación del crecimiento y bioacumulación de *Nasturtium officinale* (Berro) expuesta a cadmio, cobalto y cromo. Universidad Erciyes Kayseri, Facultad de Artes y Ciencias, Departamento de Biología. Journal Chemical Speciation & Bioavailability Turquía [Internet] 2009 [Citado 20 de febrero 2016]; VOL. (21): 257-265. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3184/095422909X12578511366924>
- 14) Poma L. V; Valderrama N. A. Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio (II) y mercurio (II) con la especie *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua)". Scientific Electronic Library Online (SCIELO) [Internet]. 2014 [Citado 24 febrero 2016]; vol.80 (3):164-173. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n3/a03v80n3.pdf>
- 15) Paz Arqueros M., Efecto del arsénico sobre el crecimiento y la actividad ascorbato peroxidasa en *Rorippa Nasturtium aquaticum* (L.) Hayek. [Tesis], Trujillo, Universidad Nacional De Trujillo - Escuela Académico Profesional De Ciencias Biológicas, 2014. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNITRU/4355/Paz%20Arqueros%2c%20Angelica%20Mercedes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- 16) Delgado M. L, Evaluación de la capacidad remediadora de *Elodea Potamogeton* en aguas contaminadas con Plomo [Tesis], Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Carrera profesional de Biología; 2011. [Consultado marzo 2016].
- 17) Fernández U, Luque C. Remoción de plomo de aguas contaminadas usando *Trichocereus cuzcoensis* [Seminario], cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Carrera profesional de Ingeniería Química, Perú 2007.
- 18) Del Cisne J, Flores CD, Fitorremediación mediante el uso de dos especies *Lemma minor* (Lenteja de agua), y *Eichornia crassipes* (Jacinto de agua) en aguas residuales producto de la activada minera [Tesis], Cuenca- Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana carrera profesional de Ingeniería Ambiental 2012. [Consultado 22 febrero 2016] Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2939/1/UPS-CT002482.pdf>
- 19) McCutcheon S.C., Schnoor J. L. Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants [monograph on the Internet]. Wiley Interscience, New Jersey; 2003 [Consultado 10 enero 2016]. Disponible en: https://books.google.es/books?id=5zEswQcoPQC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- 20) Houzelle, C. La Phytoremediation S'attaque aux sols gorges de polluants. Journal "Les Echos". [Internet] 2008 [Citado 10 de febrero 2016]; Vol. (3): 1-1. Disponible en: http://www.lesechos.fr/04/04/2008/LesEchos/20145-115-ECH_la-phytoremediation-s-attaque-aux-sols-gorges-de-polluants.htm
- 21) Núñez L.R, Meas V.Y, Ortega B.R, Olgún E. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Avances en ciencias e ingeniería. Estado Lara - Venezuela [Internet] 2004; [Citado 10 de febrero 2016] Vol. 2 pp: 69-82. Disponible en: http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/2011/Vol2/Nro3/1-ACI1036-10-full.pdf
- 22) Mendieta Webster C. y Taisigüe López K. Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas nativas de la zona minera de Chontales: Implicaciones para el potencial de fitorremediación, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua. Laboratorio de biotecnología. Austrian Partnership in higher Education and Research Development (APPEAR) [Internet] 2014. [Consultado marzo 2016]. Disponible en: http://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/methods/Accumulation-and-Translocation-metals-in-native-plants_Extended-abstract.pdf

- 23) Zayed A., Gowthaman S, Terry N. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. Environ. American Society of Agronomy, Madison Wisconsin [Internet] 1998; [Citado 19 Diciembre 2016]. Volumen. 27, 715-721. Disponible en:
<https://dl.sciencesocieties.org/publications/jeq/abstracts/27/3/JEQ0270030715>
- 24) González-Mendoza Daniel, Zapata-Pérez Omar. Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. SCIELO. México [Internet]. 2008 Jun [Citado 14 de marzo 2016]; vol. (82): 53-61. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S036621282008000100005&lng=e
- 25) Posada M. I., Arroyave M. Efectos del mercurio sobre algunas plantas acuáticas, Escuela de Ingeniería de Antioquia, Technical Scientific Antioquia (EIA) [Internet] 2006. [Citado 14 de marzo 2016]; vol. (6): 57-67. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/eia/n6/n6a06.pdf>
- 26) Muñoz Torres M., “Remoción de metales pesados en aguas residuales utilizando una macrófita acuática (*Eleocharis acicularis*) muerta” [Tesis de maestría], México. Universidad autónoma de Querétaro, Facultad de Química 2007. [Consultado marzo 2016] Disponible en:
<http://www.geociencias.unam.mx/~bole/eboletin/tesisCarolina0408.pdf>
- 27) Herrera Fortunato L. *Plantarum Cuzcorum Herrerarianum* – Estudio de la flora del departamento de Cusco. Lima: Ediciones San Martin y Cia; 1930.
- 28) Botanical – online S, [Internet]. México: botanical-online, 1999 [Actualizado 11 mayo 2016; [Citado 24 de marzo 2016]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/botanica2.htm>.
- 29) Cabascango S. “Determinación microbiológica y de metales pesados en Berro (*Nasturtium officinale* R. Br.) expendido en los diferentes mercados del distrito metropolitano de Quito” [Tesis pre grado] Quito – Ecuador , Universidad Politécnica Salesiana de Quito, 2016 Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12149>
- 30) Sagen Naumann R., Mereles Haydar F., *Nasturtium Officinale* (Brassicaceae): Nueva cita para la flora del Paraguay Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción. Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC). Paraguay [Internet] 2015. [Consultado 24 de marzo 2016]. vol. (24): 63-65 Disponible en:
http://ibone.unne.edu.ar/objetos/uploads/documentos/bonplandia/public/24_1/63_65.pdf
- 31) Comprehensive databases on quarantine plant pests and diseases, Invasive plants. [Internet] [Citado 10 abril 2016], Disponible en:
<https://translate.google.com.pe/translate?hl=es419&sl=en&u=http://www.qbank.eu/Plants/BioloMICS.aspx%3FTable%3DPlants%2520%2520Species%26Rec%3D33%26Fields%3DAI&prev=search>

- 32) Carranco M., Castillo R., Escamilla A., Martínez M., Pérez F., Stephan E. Composición química, extracción de proteína foliar y perfil de aminoácidos de siete plantas acuáticas. Instituto de Ciencia Animal La Habana. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Cuba [Internet] 2002. [Consultado 24 de marzo 2016]. vol. (36): 247-258. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193018103009.pdf>.
- 33) Ariens, E. J.; Lehmann; A. M. Simonis. Introducción a la Toxicología General. 1era. Edición, Editorial Dina S.A., México 1978, pág. 16, 17
- 34) Ministerio de Salud, Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano, Lima-Perú; DS N° 031-2010-SA. 1° Edición, 2011. [Citado 10 de abril 2016]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/reglamento_calidad_agua.pdf
- 35) Fichas internacionales de seguridad química, Mercurio. Comité Internacional de Expertos del IPCS [Internet] 2005. [Citado 10 abril 2016]. Disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/FISQ/Ficheros/0a100/nspn0056.pdf>
- 36) Marins R., Marins V., Sampling techniques for the assessment of anthropogenic vapour and particulate mercury in the Brazilian Amazon atmosphere. Environ.Monit. [Internet] 2000. [Citado 10 de marzo 2016]; vol. 2(4):325-328. Disponible en: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2000/em/b000608o#!divAbstractBcbc>
- 37) Higuera P., Esbrí J.M., González B. Consideraciones ambientales sobre el mercurio en el distrito minero de Almadén. Departamento de Ingeniería Geológica y Minas ciudad Real España, Ciclo del mercurio en la biósfera, [Internet] 2005 [Citado 10 de abril de 2016]. Disponible en: https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/2965/fi_1359044071consideraciones%20ambientales.pdf?sequence=1
- 38) USEPA (US Environment Protection agency) Mercury Study Report to Congress; Scielo [Internet] 1997 [Consultado 21 de abril 2016], vol. 1 Disponible en: <http://www.osti.gov/scitech/biblio/575110>
- 39) Organización Mundial de la Salud. [Página principal en Internet]. Perú: Departamento de Salud Pública, Medio Ambiente y Determinantes Sociales de la Salud; C 1948 - 2016 [Actualizada 10 febrero 2011]; [Consultado 10 de abril 2016]. Disponible en: http://www.who.int/phe/chemicals/faq_mercury_health/es/
- 40) Azevedo R., Rodriguez E., Fitotoxicidad del mercurio en las plantas, Department of Biology, University of Copenhagen, Denmark Biocenter. Journal of Botany [Internet] 2012 [Citado 10 de abril 2016]. vol. publicado en Vol. 2012: 6 pp. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jb/2012/848614/>

- 41) Päivöke A. Anatomical response of the roots of pea seedlings to lead and arsenate ions. *Annales Botanici Fennici* [Internet] 1983 [Citado 10 de abril 2016]. vol. publicado en Vol. (20), 307-315 Disponible en:
https://www.jstor.org/stable/23725889?seq=1#page_scan_tab_contents
- 42) Van Assche F., Clijsters, H., Effects of metals on enzyme activity in plants. Limburgs Universitair Centrum (LUC) Plant Cell Environ,Belgium - Brussels [Internet] 1990. [Consultado 10 de diciembre 2016] Vol. 13: 195-206.Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3040.1990.tb01304.x/full>
- 43) Lindberg, S., Wingstrand,G., 1985. Mechanism of Cd²⁺ inhibition of (K⁺, Mg²⁺) ATPase activity and K⁺ (Rb⁺) uptake in roots of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Physiol Plant* [Internet] 2006. [Consultado 10 de diciembre 2016] Vol.63: 181-186. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1985.tb01900.x/abstract>
- 44) Barceló J; Poschenrieder Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados Laboratorio de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Researchgate [Internet]; 1992 [Citado 14 de Diciembre 2016], Vol. 2: 345-361. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Juan_Barcelo/publication/285841974_Respuestas_de_las_plantas_a_la_contaminacion_por_metales_pesados/links/566806a908aef42b5788893d.pdf
- 45) Poschenrieder Ch., Gunse, B. and Barcelo, J. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol.*, [Internet] 1989 [Citado 16 de diciembre de 2016], Vol. 90: 136-371. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1061897/>
- 46) Foy.C; Chaney R L; White M C. The Physiology of Metal Toxicity in Plants, *Plant physiology*, [Internet] 2000 [Citado 20 diciembre 2016]; Vol. 29: pp.511-566. Disponible en:
<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.pp.29.060178.002455>
- 47) Vázquez, M. D., Poschenrieder, CH. and Barceló, J., 1989. Pulvinus structure arid leaf abscission in cadmium-treated bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Can. J. Bot*, [Internet] 1992 [Citado 30 de diciembre 2016] Vol. 67: 2756-2764. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Juan_Barcelo/publication/285841974_Respuestas_de_las_plantas_a_la_contaminacion_por_metales_pesados/links/566806a908aef42b5788893d.pdf
- 48) Hilleboe E. H., Manual de tratamiento de aguas. Departamento de sanidad del estado de Nueva York, 1ª Edición, México: Ediciones Limusa; 1995.

- 49) Estrada Gallego Islena., Humedales artificiales de flujo superficial (HAFSS) para remoción de metales pesados en aguas residuales, [Monografía en Internet]*, Comunidades en Dspace, Universidad Tecnológica de Pereira 2010. [Citado 21 de enero 2016] Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/1833>
- 50) Barros Patricio, Hidroponía, [Internet]; [Citado 10 abril 2016] Disponible en: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/3040.pdf>
- 51) Fuentes H., Muñoz S., Alcorta E. “El Tomate Rojo- Sistema Hidropónico “- 2da Edición, - Editorial Trillas S.A. – México 2011.
- 52) Rocha Castro E., Principios básicos de espectroscopía; Editorial UACH, México pág. 123-203, 2000.
- 53) Skoog. DA. James; Holler F, James, Principios de análisis instrumental 5ta Edición; Mc Graw- Hill, pág. 219-239, 1998.
- 54) Razmilic B. - Espectroscopía de absorción atómica, Merck Química Chilena Soc. Ltda- Depósito de documentos de la FAO, Santiago de Chile- Chile, 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S04.htm>
- 55) Sandell E.B. Colorimetric Determination of Traces of Metals. 2° Edition, Vol. 3, London: Interscience Publishers INC; 1950.
- 56) Norma mexicana NMX-AA-64-1981, Análisis de agua, determinación de mercurio, método colorimétrico de la ditizona. Centro de Calidad Ambiental, Diario Oficial de la Federación, N° 064, (6 de Noviembre de 1992). [Citado 21 abril 2016] Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa064.pdf>
- 57) Frank B. S., Fisiología de las plantas, 1ra Edición, Editorial Paraninfo S.A, Vol. 2, Madrid - España, 2000.
- 58) Krommenhoek W, Sebus J, et al. Atlas de Histología Vegetal. 1a edición, Editorial Marbán, Madrid- España, 1986.
- 59) Burriel F., Conde L., Arribas S., Química analítica, 18va edición, Editorial Paraninfo Madrid - España, 2008.
- 60) Azcón B., Talón M, Fundamentos de la fisiología vegetal, 2da Edición, Editorial Mcgraw-Hill S.A. Madrid-España 2008
- 61) Agrios G. N., Fitopatología, 2da Edición, Editorial Limusa, México, 2010.
- 62) Winton, Andrew L. Winton, Kate Barber. Análisis de alimentos 2° Edición; Bueno Aires- Argentina, Editorial HASA 2001.
- 63) Owen R. F Química de los alimentos, 2° Edición, Editorial Acribia, S.A, Universidad de Madison – Estados Unidos de América, 2000.

- 64) Universidad Nacional Agraria La Molina, Solución hidropónica La Molina [Consultado 21 de abril 2016].
 Disponible en: http://www.lamolina.edu.pe/hidroponia/Boletin52/Formula_Tomate.pdf
- 65) Barrientos, A., Borys, M., Trejo. & López, L. (2003). Índice y densidad estomática en plántulas de tres razas de aguacatero. Rev. Fitotec. Mex, Vol. 26(4): 285-290 pp. [Internet] 2003.[Citado 23 de noviembre 2016] Disponible en:
<http://www.redalyc.org/html/610/61026410/>
- 66) AOAC International, Official methods of analysis of AOAC International.[Internet], [Consultado 30 de mayo 2016] Disponible en: <http://www.eoma.aoac.org/>
- 67) Juárez Cahuana R., Estudio de la composición química y la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de *Corryocactus ayacuchoensis* “Muñuñunka”) [Tesis], Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. Carrera profesional de Química; 2011.
- 68) Lane S. D., Martin E. S. - A Histochemical Investigation of Lead Uptake in *Raphanus sativus*, The New Phytologist [Internet].1977 [Citado 03 enero 2016] Vol. 79, pp. 281-286. Disponible en: https://www.jstor.org/stable/2433781?seq=1#page_scan_tab_contents
- 69) Lindberg S; Wingstrand G. Mechanism for Cd²⁺ inhibition of (K⁺, Mg²⁺) ATPase activity and K⁺ (86Rb⁺) uptake join roots of sugar beet (*Beta vulgaris*) - Wingstrand-Physiologia Plantarum [Internet]. 2006 [Citado 20 diciembre2016]; Vol. 63, pp. 181–186. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1985.tb01900.x/abstract>
- 70) Navarro J.P; Aguilar A; López J.R. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. Redalyc-ecosistemas [Internet]. 2007 [Citado 20 diciembre2016]; Vol.16 (2), pp. 1-17.
 Disponible en:<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54016203>
- 71) Drazkiewicz, M. Chlorophyllase: occurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. Agris [Internet]. 1994 [Citado 20 diciembre2016]; volumen 30, pp. 321.331.
 Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CZ9500366>
- 72) Burzynski M. Influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. AGRIS [Internet]. 1987 [Citado 20 diciembre2016]; Vol. 9; PP. 229-238 Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PL19890046093>.
- 73) García Vargas D. Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de *Zea mays* L. expuestas a la toxicidad del plomo [Tesis], Barcelona. Universidad autónoma de Barcelona-Facultad de Ciencias - 2006. Disponible en:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3676/dgv1de1.pdf;jsessionid=EAA6DCC0FD303F6A4F28164E444E9DB0?sequence=1>

- 74) Bethke PC, Drew MC. Stomatal and Nonstomatal Components to Inhibition of Photosynthesis in Leaves of *Capsicum annum* during Progressive Exposure to NaCl Salinity. *Plant physiol.* [Internet]. 1999 [Citado 20 diciembre2016]; volumen 99, 219-226. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1080428/pdf/plntphys00704-0228.pdf>
- 75) Zhongjin L; Neumann P. Water Stress Inhibits Hydraulic Conductance and Leaf Growth in Rice Seedlings but Not the Transport of Water via Mercury-Sensitive Water Channels in the Root. *Plant Physiologists* [Internet]. 2000 [Citado 16 de diciembre 2016]; Vol. 120, pp. 143–151. Disponible en:
<http://tx.technion.ac.il/~agrengrn/agr/members/neumann/Lu%20Nmn%20Rice%20Lp%20P%201999.pdf>
- 76) Paz Arqueros A., Efecto del arsénico sobre el crecimiento y la actividad ascorbato peroxidasa en *Rorippa Nasturtium aquaticum* (L.) Hayek. [Tesis], Trujillo, Universidad Nacional De Trujillo - Escuela Académico Profesional De Ciencias Biológicas, 2014. Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNITRU/4355/Paz%20Arqueros%2c%20Angelica%20Mercedes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 77) Janicka M. Kaba K., Burzynski M., Grazyna K. Response of plasma membrane ATPase to heavy metal stress in *Cucumis sativus* roots. *Experimental Botany* [Internet]. 2008 [Citado 20 diciembre2016]; Vol.59, N°13, pp.3721–3728. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2561156/pdf/ern219.pdf>
- 78) Zhang W; Stephen D; Tyerman. Inhibition of Water Channels by HgCl₂ in Intact Wheat Root Cells. *Plant Physiologists* [Internet]. 2000 [Citado 16 diciembre2016]; Vol. 120, pp. 849–857. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC59324/>
- 79) Hernández R; Nutrición mineral en plantas; Botanical book - online S, [Internet]. Venezuela: Botanical book - online [Internet]. 2002, Universidad de Los Andes - Mérida – Venezuela. Disponible en: <http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/nutricionmineral/>.
- 80) Douglas L. Lead Influences Root Growth and Mineral Nutrition of *Picea abies* Seedlings- Godbold *Journal of Plant Physiology* [Internet]. 1991 [Citado 10 diciembre2016]; Vol. 139, pp.95–99. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/257037733_Lead_Influences_Root_Growth_and_Mineral_Nutrition_of_Picea_abies_Seedlings

- 81) Jana S; Monojit, Choudhuri A. Senescence in submerged aquatic angiosperms: effects of heavy metals. *New phytologist* [Internet]. 1982 [Citado 18 diciembre2016]; Volume 90, PP 477–484. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.1982.tb04480.x/epdf>
- 82) Devi R., Nidhi M., Anil K., Effect of exogenous lead on growth and carbon metabolism of pea (*Pisum sativum* L) seedlings, *Springer-Link* [Internet].2013 [Citado 03 enero 2016];Volume 19, pp 81–89 Disponible en:
<http://link.springer.com/article/10.1007/s12298-012-0143-5>
- 83) Cano Vera Miria J. Análisis bromatológico nutricional de nueve especies de alfalfa [Tesis], Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Carrera profesional de Química; 1999.
- 84) Burton W, Morgan E, Roig A. The influence of heavy metals upon the growth of sitka-spruce in South Wales forests. *Plant and Soil*. [Internet] 1984; [Citado 19 Diciembre 2016]. Vol. 78. pp- 271–282. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF02450361>
- 85) Organismo de evaluación y fiscalización ambiental (OEFA) - Informe Final Integrado de Monitoreo Sanitario Ambiental Participativo de la Provincia de Espinar, Lima-Perú, 2013.
- 86) Villena Tejada Magaly “Metodos de Investigación Científica y Tecnológica” Cusco, 2008.

ANEXOS

ANEXO I
CERTIFICACIÓN DE LA S ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* W. T.
***Aiton* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* L. f. (Mateccillo)**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CERTIFICACION

El que suscribe, Profesor Investigador Asociado del Herbario Vargas (CUZ), certifica que las Alumnas: Jackelin Huaman Tito Código101773-GI y Abigail Rumaja Santos Código101778-I de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica - Facultad de Ciencias de la Salud, han sometido a consulta muestras botánicas colectadas para su determinación, las que al ser diagnosticadas a tratamiento taxonómico corresponden a las especies:

Nasturtium officinale W.T. Aiton Familia: Brassicaceae. Nombres comunes: berro

En la clasificación APG IV CERTIFICACION (Angiosperm Phylogenetic Group) la ubicación taxonómica corresponde a:

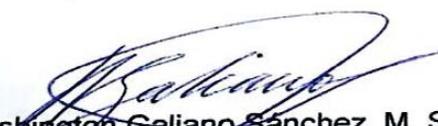
- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Brassicales Bromhead
- Familia: !!Brassicaceae Burnett
- Género: !!*Nasturtium* W.T. Aiton.
- Especie: *Nasturtium officinale* W.T. Aiton.

Hydrocotyle ranunculoides L. f. Familia: ***Araliaceae*** e. Nombres comunes: Mateccillo

En la clasificación APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group) la ubicación taxonómica corresponde a:

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Asteranae Takht.
- Orden: Apiales Nakaid
- Familia: Araliaceae Juss.
- Género: !*Hydrocotyle* L.
- Especie: *Hydrocotyle ranunculoides* L. f.

Lo que se certifica para los fines concernientes al caso.


Washington Galiano Sánchez M. Sc., Dr. (c).
Prof. Principal Dpto. Académico de Biología
Investigador Asociado al Herbario Vargas CUZ
Experto científico CITES

ANEXO II

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Nasturtium officinale*

Identificación de la especie vegetal

Nombre científico (género, especie, autor, familia): _____

Nombre local: _____

Identificación del lugar de cultivo

Ubicación del campo de cultivo:

Provincia/región/país:

Datos del agua

pH del agua _____

Temperatura _____

Datos de la especie vegetal

Altura de las plantas (cm) _____

Diámetro de las plantas (cm) _____

Cosechado/recolección

Fecha de cosechado:

Hora del día:

Condiciones:

Método:

Circunstancias no habituales que pueden influir en la calidad

(Condiciones climatológicas extremas, exposición a sustancias peligrosas, brotes de plagas, etc.):

Resumen de las condiciones de crecimiento de las plantas

Año _____

Otras observaciones y recomendaciones:

ANEXO III

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Hydrocotyle ranunculoides*

Identificación de la especie vegetal

Nombre científico (género, especie, autor, familia): _____

Nombre local: _____

Identificación del lugar de cultivo

Ubicación del campo de cultivo:

Provincia/región/país:

Datos del agua

pH del agua _____

Temperatura _____

Salinidad _____

Datos de la especie vegetal

Altura de las plantas (cm) _____

Diámetro de las plantas (cm) _____

Cosechado/recolección

Fecha de cosechado:

Hora del día: _____

Condiciones:

Método:

Circunstancias no habituales que pueden influir en la calidad

(Condiciones climatológicas extremas, exposición a sustancias peligrosas, brotes de plagas, etc.):

Resumen de las condiciones de crecimiento de las plantas

Año _____

Otras observaciones y recomendaciones:

ANEXO IV

FICHA DE CONTROL DE TEMPERATURA, % DE HUMEDAD Y pH (INVERNADERO)

AÑO: 2016

MES: Setiembre - Octubre

FECHA	HORA M/T	TEMPERATURA °C	%HR	pH
24/09/2016	10:30 / 3:30	23.8 °C / 22.0 °C	36% / 41%	6.91
25/09/2016	10:40 / 3:35	23.4 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.87
26/09/2016	10:28 / 3:30	23.0 °C / 22.3 °C	39% / 49%	6.88
27/09/2016	10:40 / 3:35	23.4 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.86
28/09/2016	10:25 / 3:40	23.0 °C / 22.7 °C	35% / 40%	6.89
29/09/2016	10:40 / 3:35	24.0 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.90
30/09/2016	11:10 / 3:30	23.7 °C / 22.2 °C	34% / 42%	6.88
01/10/2016	10:33 / 4:15	24.1 °C / 22.9 °C	35% / 43%	6.86
02/10/2016	10:30 / 3:30	23.8 °C / 22.0 °C	36% / 41%	6.88
03/10/2016	10:45 / 3:20	23.6 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.89
04/10/2016	10:30 / 3:30	23.8 °C / 23.0 °C	36% / 41%	6.90
05/10/2016	10:40 / 3:35	24.4 °C / 23.2 °C	36% / 44%	6.90
06/10/2016	10:30 / 3:30	23.9 °C / 22.7 °C	37% / 41%	6.89
07/10/2016	10:40 / 3:35	24.1 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.90
08/10/2016	11:15 / 3:30	23.9 °C / 23.0 °C	36% / 41%	6.89
09/10/2016	10:40 / 3:35	24.4 °C / 23.6 °C	33% / 44%	6.89
10/10/2016	10:30 / 3:30	23.8 °C / 22.3 °C	36% / 41%	6.87
11/10/2016	10:40 / 3:35	23.9 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.88
12/10/2016	10:28 / 3:30	24.2 °C / 23.3 °C	40% / 49%	6.86
13/10/2016	10:40 / 3:35	23.8 °C / 22.9 °C	33% / 44%	6.89
14/10/2016	10:25 / 3:40	24.0 °C / 23.5 °C	35% / 40%	6.90
15/10/2016	10:40 / 3:35	23.9 °C / 22.8 °C	33% / 44%	6.88
16/10/2016	11:10 / 4:20	24.0 °C / 23.1 °C	34% / 42%	6.86
17/10/2016	10:33 / 3:30	23.5 °C / 22.7 °C	35% / 40%	6.88
18/10/2016	11:00 / 3:30	23.8 °C / 23.0 °C	36% / 41%	6.89
19/10/2016	10:45 / 3:20	24.3 °C / 23.8 °C	33% / 44%	6.90
20/10/2016	10:30 / 3:30	24.1 °C / 23.0 °C	36% / 41%	6.90
21/10/2016	10:50 / 3:35	24.4 °C / 23.5 °C	36% / 44%	6.89
22/10/2016	10:35 / 3:30	23.8 °C / 23.1 °C	37% / 41%	6.90
23/10/2016	10:40 / 3:35	24.5 °C / 23.7 °C	33% / 44%	6.89
24/10/2016	10:30 / 3:30	23.8 °C / 23.0 °C	36% / 41%	6.89
25/10/2016	10:40 / 3:35	24.4 °C / 23.8 °C	33% / 44%	6.90

ANEXO V

FICHA DE CONTROL DE TEMPERATURA, % DE HUMEDAD Y pH DURANTE LA ETAPA DE CONTAMINACIÓN

AÑO: 2016

MES: Octubre

FECHA	HORA	TEMPERATURA °C	%HR	pH					
				CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm
<i>Nasturtium officinale</i> (Berro)									
25/10/2016	10:00	17.7 °C	43 %	6.91	6.90	6.89	6.89	6.89	6.86
26/10/2016	10:30	17.5 °C	45 %	6.89	6.89	6.90	6.90	6.89	6.87
27/10/2016	10:25	17.3 °C	42 %	6.90	6.89	6.90	6.91	6.88	6.86
28/10/2016	10:30	17.9 °C	44 %	6.90	6.90	6.89	6.90	6.89	6.86
29/10/2016	10:15	17.1 °C	47 %	6.89	6.88	6.90	6.90	6.90	6.87
30/10/2016	10:35	18.0 °C	41 %	6.90	6.90	6.90	6.89	6.88	6.86
31/10/2016	10:20	17.0 °C	47 %	6.91	6.90	6.88	6.90	6.88	6.86
01/11/2016	09:40	17.5 °C	46 %	6.89	6.89	6.90	6.89	6.87	6.86
02/11/2016	10:00	17.3 °C	42 %	6.90	6.90	6.90	6.89	6.88	6.87
03/11/2016	10:30	18.1 °C	44 %	6.90	6.90	6.89	6.90	6.88	6.86
04/11/2016	10:25	17.5 °C	45 %	6.89	6.90	6.90	6.90	6.87	6.86
05/11/2016	10:40	17.3 °C	41 %	6.90	6.90	6.90	6.91	6.86	6.87
06/11/2016	10:35	18.0 °C	39 %	6.90	6.90	6.89	6.90	6.86	6.87
07/11/2016	10:00	17.9 °C	42 %	6.91	6.90	6.90	6.89	6.87	6.86
08/11/2016	11:00	18.3 °C	41 %	6.90	6.90	6.90	6.89	6.87	6.87
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> (Matecillo)									
				CONTROL	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm
25/10/2016	10:00	17.7 °C	43 %	6.90	6.88	6.88	6.87	6.86	6.87
26/10/2016	10:30	17.5 °C	45 %	6.89	6.89	6.87	6.87	6.87	6.87
27/10/2016	10:25	17.3 °C	42 %	6.89	6.88	6.87	6.88	6.87	6.86
28/10/2016	10:30	17.9 °C	44 %	6.90	6.89	6.88	6.87	6.88	6.87
29/10/2016	10:15	17.1 °C	47 %	6.89	6.88	6.87	6.88	6.88	6.87
30/10/2016	10:35	18.0 °C	41 %	6.90	6.88	6.88	6.88	6.88	6.87
31/10/2016	10:20	17.0 °C	47 %	6.89	6.89	6.88	6.89	6.87	6.88
01/11/2016	09:40	17.5 °C	46 %	6.89	6.89	6.89	6.88	6.87	6.86
02/11/2016	10:00	17.3 °C	42 %	6.90	6.88	6.88	6.88	6.88	6.87
03/11/2016	10:30	18.1 °C	44 %	6.88	6.88	6.88	6.87	6.88	6.86
04/11/2016	10:25	17.5 °C	45 %	6.89	6.88	6.87	6.87	6.88	6.88
05/11/2016	10:40	17.3 °C	41 %	6.90	6.89	6.88	6.88	6.87	6.87
06/11/2016	10:35	18.0 °C	39 %	6.90	6.90	6.88	6.88	6.89	6.87
07/11/2016	10:00	17.9 °C	42 %	6.89	6.88	6.87	6.87	6.88	6.88
08/11/2016	11:00	18.3 °C	41 %	6.90	6.88	6.88	6.88	6.87	6.87

ANEXO VI

RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* E *Hydrocotyle ranunculoides* EN EL RIACHUELO DE K'AYRA-SAN JERÓNIMO



Recolección de las especies vegetales en el Riachuelo de K'ayra, San Jerónimo- Cusco.

Medición de la temperatura, humedad y pH del agua



Nasturtium officinale (Berro)



Hydrocotyle ranunculoides (Mateccillo)

ANEXO VI

CONSTRUCCIÓN DEL INVERNADERO Y SISTEMA HIDROPÓNICO



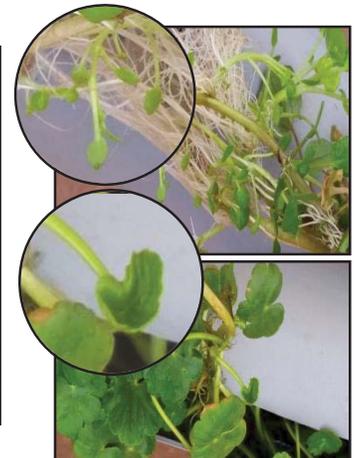
Construcción del invernadero y sistema hidropónico



Posicionamiento de las especies vegetales



Nutrición de las especies vegetales



Nuevos brotes

ANEXO VII

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SOLUCIÓN HIDROPÓNICA A Y B “LA MOLINA”



Solución hidropónica A de 250 mL
Solución hidropónica B de 100 mL

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SOLUCIÓN HIDROPÓNICA A

CONTIENE: Nitrato de potasio, nitrato de amonio y superfosfato triple de calcio.
INSTRUCCIONES: Agítese antes de usar.
Consérvese en lugar fresco y oscuro.
PRECAUCION: No ingerir.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SOLUCIÓN HIDROPÓNICA B

CONTIENE: Sulfato de magnesio y micronutrientes (hierro, boro, manganeso, cobre, zinc, molibdeno y cloro).
INSTRUCCIONES: Agítese antes de usar.
Consérvese en lugar fresco y oscuro.
PRECAUCION: No ingerir.

ANEXO VIII

PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y SELECCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES PARA LA ETAPA DE CONTAMINACIÓN CON MERCURIO



Preparación de sulfato de mercurio (II) para obtener concentraciones de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 y 5.0 ppm de mercurio (II).

Selección de las especies vegetales para el posicionamiento en cada recipiente contaminado con mercurio (II)



Nasturtium officinale (Berro)

Hydrocotyle ranunculoides (Matecillo)

Posicionamiento de las especies vegetales



Agua contaminada con mercurio en concentraciones: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 y 5.0 ppm Hg^{2+}

Nasturtium officinale e *Hydrocotyle ranunculoides* posicionada en cada recipiente

ANEXO IX

ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*



Determinación del porcentaje de humedad

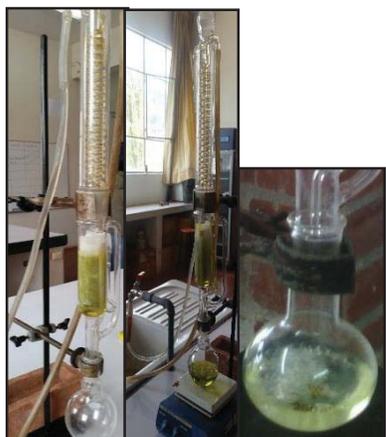
Determinación del porcentaje de cenizas



Determinación del porcentaje de proteína total



Determinación del porcentaje de fibra total



Determinación del porcentaje de grasa total

ANEXO X

ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LAS ESPECIES VEGETALES *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*

Medición del tamaño de raíz, tallo y hojas



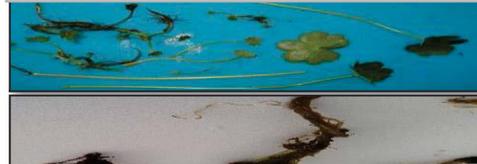
Medición de la raíz



Medición de la raíz



Medición de la planta entera



Medición de la parte aérea

Nasturtium officinale

Hydrocotyle ranunculoides

Conteo del número de estomas



Obtención de la epidermis del tallo y hojas (haz y envés)



Epidermis de las muestras colocadas en los portaobjetos

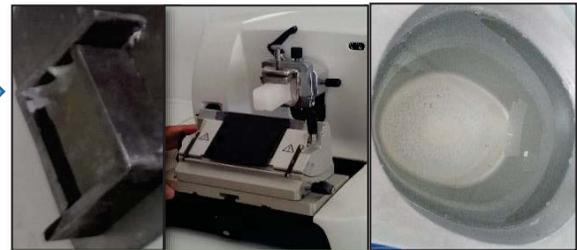


Conteo de estomas a 40X

Morfología interna



Fijación de las muestras con FAA. Deshidratación con alcoholes de 70, 90 96 %. Clarificación (Benceno + alcohol)



Inclusión de las muestras y cortes el micrótomo



Muestras listas para la vista en el microscopio a 4X, 10 X y 40 X

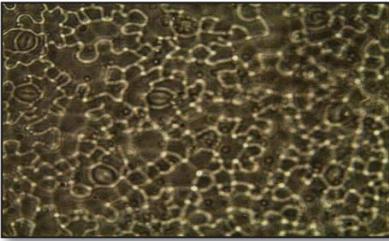
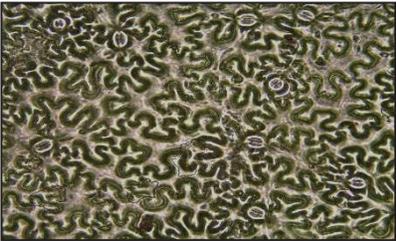
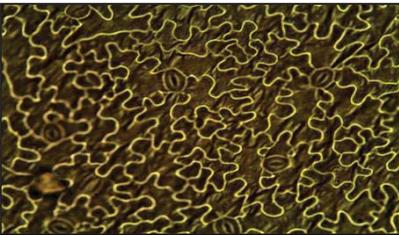
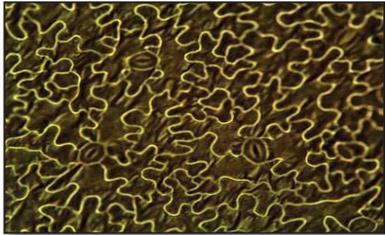
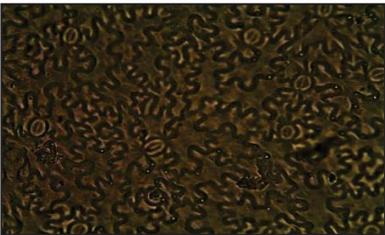
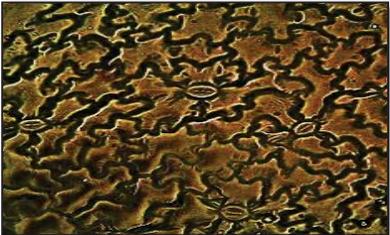
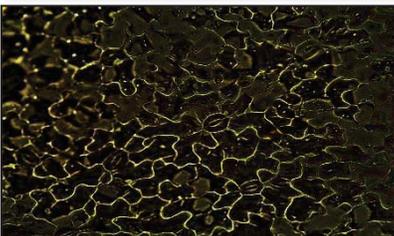
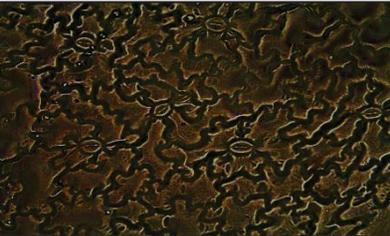
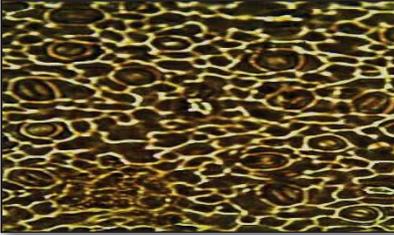
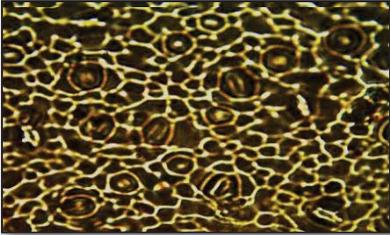


Lavado de las muestras en benceno, y alcohol de 96, 90 y 70 %. Coloración con Zafraína y Fast green

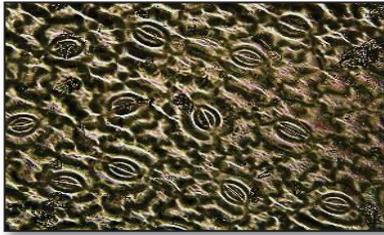
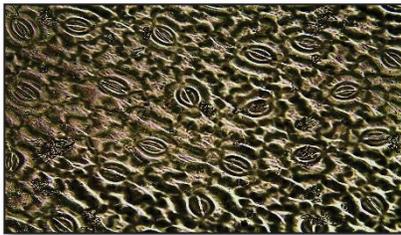
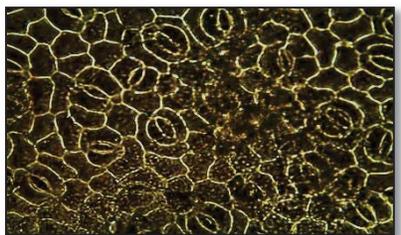
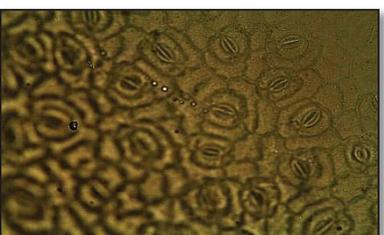
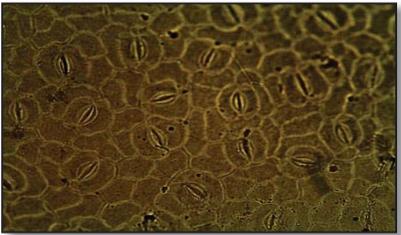
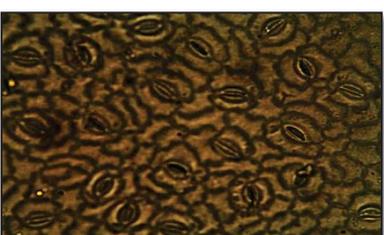
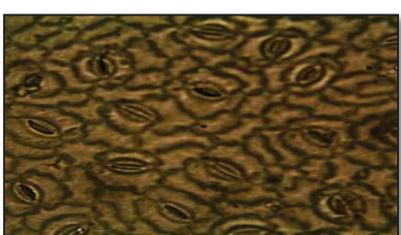
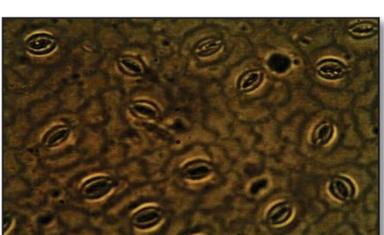
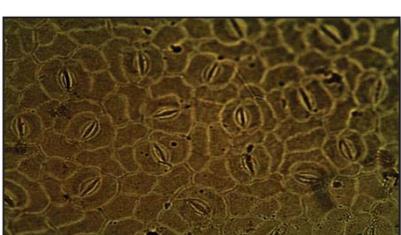
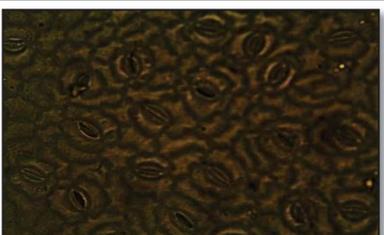
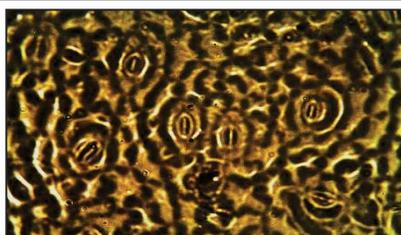


Desparafinado y extendido de las muestras

ANEXO XI
CONTEO DEL NÚMERO DE ESTOMAS DE *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)

Concentración	<i>Nasturtium officinale</i>	
	ABAXIAL	ADAXIAL
Grupo Control		
0.1 ppm Hg ²⁺		
0.5 ppm Hg ²⁺		
1.0 ppm Hg ²⁺		
2.0 ppm Hg ²⁺		
5.0 ppm Hg ²⁺		

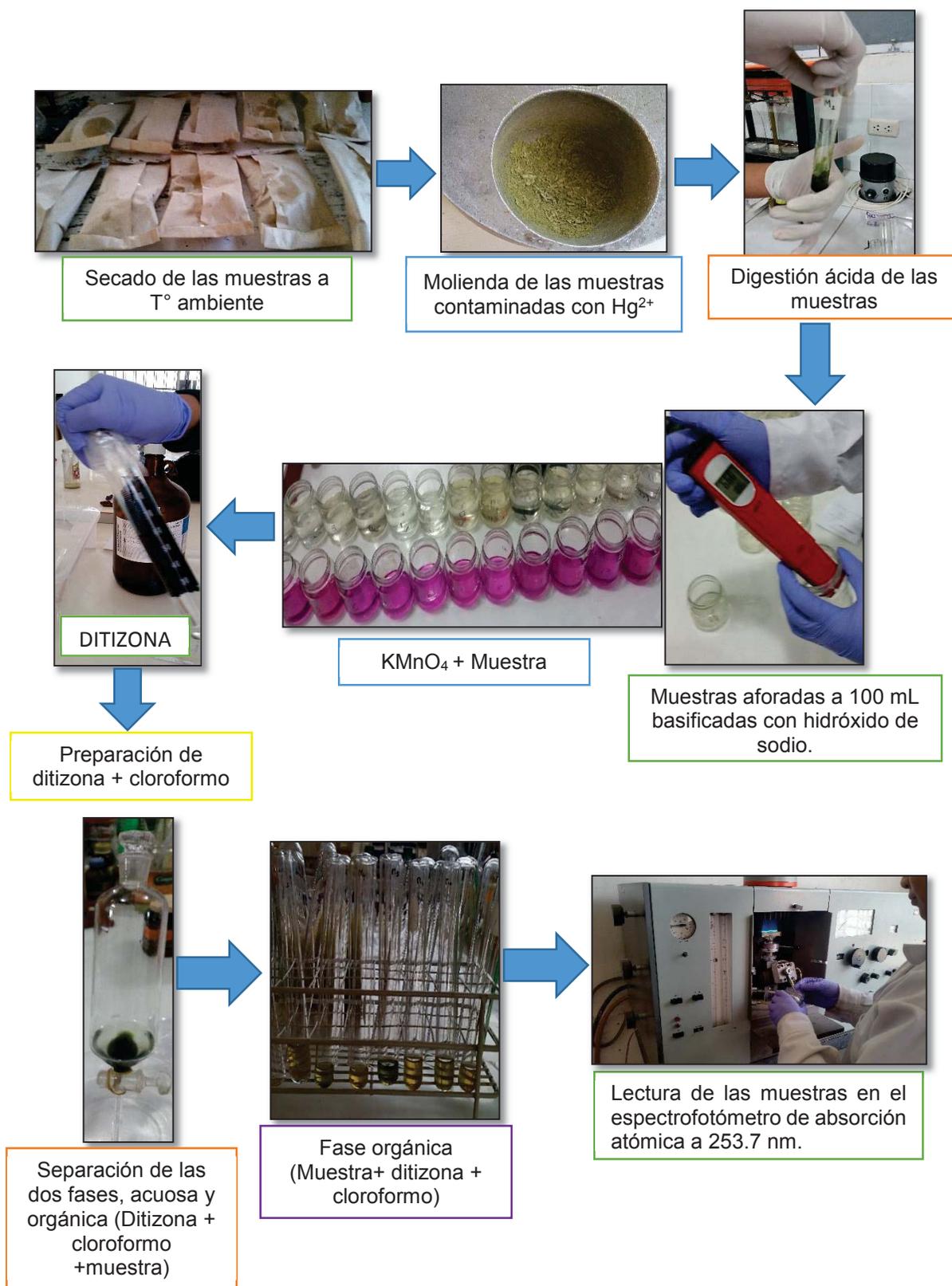
En estas fotografías se observa a los estomas de la cara abaxial y adaxial de *N. officinale*, expuestas a diferentes concentraciones de mercurio, donde se aprecia que a concentraciones de 2.0 y 5.0 ppm Hg²⁺ el número de estomas se reduce y el de células anexas se incrementa.

Concentración	<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	
	ABAXIAL	ADAXIAL
Grupo Control		
0.1 ppm Hg ²⁺		
0.5 ppm Hg ²⁺		
1.0 ppm Hg ²⁺		
2.0 ppm Hg ²⁺		
5.0 ppm Hg ²⁺		

En estas fotografías se observa a los estomas de la cara abaxial y adaxial *H. ranunculoides*, expuestas a diferentes concentraciones de mercurio, donde se aprecia que a concentraciones de 2.0 y 5.0 ppm Hg²⁺ el número de estomas se reduce y el de células anexas se incrementa.

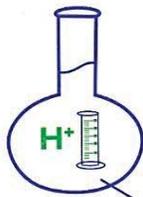
ANEXO XII

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMEDIADORA DE *Nasturtium officinale* e *Hydrocotyle ranunculoides*



ANEXO XIII

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DE MERCURIO EN LAS ESPECIES VEGETALES Y AGUA



MC QUIMICALAB

De: Ing. Mario Cumpa Cayuri

LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES:
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 102384090787 - TELÉF. 271966 COVIDUC A4 - CEL 984687752

INFORME N° LQ 0167-16

ANÁLISIS DE MERCURIO EN PLANTAS ACUÁTICAS

SOLICITA : Jackeline Zúmiko Huamán Tito

Abigail Rumaja Santos

MUESTRA : Raíz y parte aérea (tallo y hojas) de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo)

TESIS : "Evaluación de la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Mateccllo) frente a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones."

EQUIPO: Espectrofotómetro de absorción atómica en llama (Karl Zeiss – Jena AAS1N)

FECHA : 23/11/2016

RESULTADOS

LECTURA DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO POR ABSORCIÓN ATÓMICA EN ESPECIE VEGETAL

Muestra	Código	Absorbancia	mg/L de Hg
1	1BR	0.025	0.012
2	1BR	0.027	0.014
3	1BR	0.021	0.011
4	2BR	0.100	0.070
5	2BR	0.091	0.066
6	2BR	0.120	0.071
7	3BR	0.247	0.130
8	3BR	0.284	0.150
9	3BR	0.232	0.122
10	4BR	0.500	0.305
11	4BR	0.450	0.299
12	4BR	0.515	0.308
13	5BR	0.859	0.570
14	5BR	0.874	0.581
15	5BR	0.858	0.569
16	CONTROL BR	0.00	0.00
17	1BPA	0.050	0.030
18	1BPA	0.043	0.028
19	1BPA	0.052	0.031
20	2BPA	0.269	0.142
21	2BPA	0.277	0.146
22	2BPA	0.265	0.140
23	3BPA	0.445	0.252
24	3BPA	0.350	0.185
25	3BPA	0.376	0.198
26	4BPA	0.445	0.252
27	4BPA	0.456	0.261
28	4BPA	0.438	0.246



Ing. Mario Cumpa Cayuri
Reg. CIP. 16188
CONSULTOR AMBIENTAL DREM-GR-CUSCO
CATEGORIA I Y II

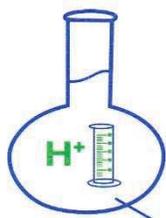


29	5BPA	0.486	0.285
30	5BPA	0.478	0.279
31	5BPA	0.464	0.267
32	CONTROL BPA	0.00	0.00
33	1MR	0.019	0.011
34	1MR	0.034	0.018
35	1MR	0.038	0.022
36	2MR	0.203	0.107
37	2MR	0.190	0.100
38	2MR	0.199	0.105
39	3MR	0.329	0.173
40	3MR	0.325	0.171
41	3MR	0.298	0.157
42	4MR	0.463	0.266
43	4MR	0.455	0.260
44	4MR	0.465	0.268
45	5MR	0.593	0.371
46	5MR	0.590	0.368
47	5MR	0.599	0.375
48	CONTROL MR	0.00	0.00
49	1MPA	0.055	0.031
50	1MPA	0.039	0.023
51	1MPA	0.035	0.019
52	2MPA	0.150	0.086
53	2MPA	0.175	0.093
54	2MPA	0.170	0.090
55	3MPA	0.198	0.104
56	3MPA	0.205	0.108
57	3MPA	0.230	0.121
58	4MPA	0.386	0.205
59	4MPA	0.394	0.211
60	4MPA	0.385	0.204
61	5MPA	0.470	0.272
62	5MPA	0.474	0.275
63	5MPA	0.466	0.269
64	CONTROL MPA	0.00	0.00



Mario Cumpa Cayuri
Ing. Mario Cumpa Cayuri
 Reg. CIP. 16188
 CONSULTOR AMBIENTAL DREM-GR-CUSCO
 CATEGORIA I Y II





MC QUIMICALAB

De: Ing. Mario Cumpa Cayuri

LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES:
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 102384090787 - TELÉF. 271966 COVIDUC A4 - CEL 984687752

INFORME N°LQ 0168-16

ANÁLISIS DE MERCURIO EN AGUA

SOLICITA : Jackeline Zúmiko Huamán Tito
Abigail Rumaja Santos

MUESTRA : Agua contaminada con Mercurio

TESIS : "Evaluación de la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales *Nasturtium officinale* (Berro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (Matecillo) frente a la contaminación con mercurio a diferentes concentraciones."

EQUIPO: Espectrofotómetro de absorción atómica en llama (Karl Zeiss – Jena AAS1N)

FECHA : 23/11/2016

RESULTADOS

LECTURA DE LA CONCENTRACIÓN DE MERCURIO EN AGUA POR ABSORCIÓN ATÓMICA

Muestra	Código	Absorbancia	mg/L de Hg
1	1B	0.002	0.001
2	1B	0.002	0.003
3	1B	0.002	0.002
4	2B	0.002	0.005
5	2B	0.002	0.005
6	2B	0.003	0.008
7	3B	0.505	0.300
8	3B	0.403	0.218
9	3B	0.446	0.253
10	4B	1.000	0.700
11	4B	0.993	0.693
12	4B	1.007	0.707
13	5B	5.300	3.000
14	5B	5.040	2.993
15	5B	5.110	3.049
16	1M	0.002	0.002
17	1M	0.002	0.004
18	1M	0.002	0.004
19	2M	0.079	0.050
20	2M	0.079	0.050
21	2M	0.078	0.045
22	3M	0.573	0.354
23	3M	0.566	0.349
24	3M	0.569	0.351
25	4M	1.710	0.900
26	4M	1.720	0.901
27	4M	1.708	0.899
28	5M	3.800	3.500
29	5M	3.800	3.500
30	5M	3.797	3.497



Ing. Mario Cumpa Cayuri
Reg. CIP. 16188
CONSULTOR AMBIENTAL DREM-GR-CUSCO
CATEGORIA I Y II



31	CONTROL 0.1 ppm	0.190	0.100
32	CONTROL 0.5 ppm	0.675	0.450
33	CONTROL 1.0 ppm	1.920	0.900
34	CONTROL 2.0 ppm	3.750	1.970
35	CONTROL 5.0 ppm	6.850	4.930
36	CONTROL S/Hg	0.000	0.000

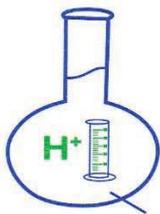


Mario Cumpa Cayuri
Ing. Mario Cumpa Cayuri
 Reg. CIP. 16188
 CONSULTOR AMBIENTAL DREM GR-CUSCO
 CATEGORIA I Y II

Maria Luisa Gutierrez



QUIMICA LAB
 CUSCO
 ADMINISTRADORA
 LIC. MARIA LUISA GUTIERREZ HOLGADO



MC QUIMICALAB

De: Ing. Mario Cumpa Cayuri

LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES:
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 102384090787 - TELÉF. 271966 COVIDUC A4 - CEL 984687752

Continuación del informe.

CÁLCULOS DE CAPACIDAD DE ABSORCIÓN

Muestra	Código	Peso de muestra seca	Vol. aforo	g. absorbido	mg Hg/g planta
1	1BR	0.351	100	0.001	2.356
2	1BR	0.349	100	0.001	2.676
3	1BR	0.355	100	0.001	2.067
4	2BR	0.307	100	0.007	15.208
5	2BR	0.311	100	0.007	14.155
6	2BR	0.309	100	0.007	15.326
7	3BR	0.313	100	0.013	27.703
8	3BR	0.315	100	0.015	31.762
9	3BR	0.314	100	0.012	25.915
10	4BR	0.334	100	0.031	60.909
11	4BR	0.332	100	0.030	60.070
12	4BR	0.335	100	0.031	61.324
13	5BR	0.358	100	0.057	106.198
14	5BR	0.355	100	0.058	109.163
15	5BR	0.357	100	0.057	106.309
16	CONTROL BR	0.310	100	0.000	0.000
17	1BPA	0.562	100	0.003	3.560
18	1BPA	0.560	100	0.003	3.275
19	1BPA	0.561	100	0.003	3.686
20	2BPA	0.580	100	0.014	16.330
21	2BPA	0.582	100	0.015	16.732
22	2BPA	0.580	100	0.014	16.100
23	3BPA	0.578	100	0.025	29.080
24	3BPA	0.580	100	0.019	21.275
25	3BPA	0.579	100	0.020	22.809
26	4BPA	0.502	100	0.025	33.483
27	4BPA	0.501	100	0.026	34.748
28	4BPA	0.501	100	0.025	32.751
29	5BPA	0.558	100	0.029	34.067
30	5BPA	0.559	100	0.028	33.290
31	5BPA	0.556	100	0.027	32.030
32	CONTROL BPA	0.520	100	0.000	0.000
33	1MR	0.303	100	0.001	2.421
34	1MR	0.300	100	0.002	4.002
35	1MR	0.302	100	0.002	4.859
36	2MR	0.303	100	0.011	23.554
37	2MR	0.304	100	0.010	21.941
38	2MR	0.302	100	0.011	23.190
39	3MR	0.339	100	0.017	34.039
40	3MR	0.337	100	0.017	33.845



Mario Cumpa Cayuri
Ing. Mario Cumpa Cayuri
Reg. CIP. 16188
CONSULTOR AMBIENTAL DREM-GR-CUSCO
CATEGORIA I Y II



41	3MR	0.340	100	0.016	30.800
42	4MR	0.322	100	0.027	55.100
43	4MR	0.320	100	0.026	54.194
44	4MR	0.322	100	0.027	55.514
45	5MR	0.364	100	0.037	67.983
46	5MR	0.363	100	0.037	67.619
47	5MR	0.365	100	0.038	68.527
48	CONTROL MR	0.330	100	0.000	0.000
49	1MPA	0.563	100	0.003	3.673
50	1MPA	0.562	100	0.002	2.730
51	1MPA	0.564	100	0.002	2.247
52	2MPA	0.509	100	0.009	11.270
53	2MPA	0.510	100	0.009	12.163
54	2MPA	0.509	100	0.009	11.794
55	3MPA	0.532	100	0.010	13.039
56	3MPA	0.530	100	0.011	13.592
57	3MPA	0.533	100	0.012	15.142
58	4MPA	0.579	100	0.021	23.616
59	4MPA	0.580	100	0.021	24.265
60	4MPA	0.578	100	0.020	23.541
61	5MPA	0.518	100	0.027	35.024
62	5MPA	0.519	100	0.028	35.342
63	5MPA	0.518	100	0.027	34.638
64	CONTROL MPA	0.531	100	0.000	0.000



Mario Cumpa Cayuri
Ing. Mario Cumpa Cayuri
 Reg. CIP. 15188
 CONSULTOR AMBIENTAL DREM-GR-CUSCO
 CATEGORIA I Y II



ZONAS CONTAMINADAS CON MERCURIO EN LA REGIÓN DEL CUSCO

Mineros de La Rinconada controlan cerros del Cusco

Tierradenadie

Con explosivos y **mercurio** procesan oro ilegalmente en el distrito de Ccarhuayo.

Comuneros aseguran que explotación pone en peligro celebración del Qoyllur Riti.

—JULIO TALLEDO VILELA

Cusco. Un litigio por el control de una concesión de la empresa minera Kinacox S.A. ha puesto al descubierto la explotación ilegal de oro que realizan decenas de personas en las minas Qori Auquilla y La Cumbraera, en el distrito cusqueño de Ccarhuayo, en la provincia de Quispicanchi.

Las informaciones que indicaban que, en los últimos meses, en la zona de extracción aurífera—ubicada a 4.550 metros de altitud—la actividad ilícita se había agravado no pudieron ser probadas por representantes de la Fiscalía Especializada en Materia Ambiental del Cusco, pues en dos ocasiones fueron impedidos de avanzar al lugar por un grupo de comuneros de Parccocalla. Ni siquiera la presencia policial hizo retroceder a los pobladores, que han colocado una tranquera en la ruta que conecta el distrito de Ocongate con la ciudad de Paucartambo. Estos han contratado a más de 200 mineros de La Rinconada (distrito puneño de Ananea), de acuerdo con un informe de inteligencia de la PNP.

“ Toda esa gente de Ananea que sabe trabajar en minería se ha venido a Ccarhuayo. No podemos dar mayor información porque es un caso reserva-

do”, manifiesta el fiscal Odicio Bueno, quien ha informado a la Fiscalía Penal de Quispicanchi sobre el control ilegal de la referida vía. Un equipo de El Comercio, sin embargo, logró completar el recorrido hasta llegar a inmediaciones de las minas. En el trayecto se apreciaron varias camionetas y motocicletas. Los conductores de los vehículos menores cumplen la función de vigilantes en los cerros. Ningún extraño puede transitar con libertad.

Dos explosiones confirmaron la sospecha: emplean dinamita para extraer el preciado metal. Días atrás, dirigentes de los comuneros que trabajan en el lugar afirmaron en la sede de la Dirección Regional de Energía y Minas de Cusco que solo se practicaba minería artesanal.

“Los relaves discurren por una quebrada que se une al río Mapacho, conocido también como Paucartambo”.

El campamento tiene varias casas rústicas. A lo lejos se pudo ver a varios niños y mujeres trabajando cerca de montículos de residuos. Este Diario tuvo acceso a imágenes de los almaces de mercurio, que según trabajadores de la zona se expenden a \$/700 el kilo. Los relaves discurren por una quebrada que se une con el río Mapacho—conocido también como Paucartambo—, donde existe una importante población de truchas para consumo humano.

“En las minas ya hay prostitución y también se han producido robos. Hay varios ‘chalecos’ [guardespaldas ilegales], incluso con armas de largo alcance”, cuenta un trabajador minero.

EN CONFLICTO

La fiebre del oro en esta zona de los Andes se inició en el 2008.



ILEGAL. En los campamentos emplean insumos químicos. Los relaves discurren por una quebrada.

Qori Auquilla era explotada por trabajadores de la estadounidense Anthony Evans Woods Bruce. Debido a problemas con los comuneros, este traspasó la concesión a Kinacox S.A., representada por Marciano Aliaga Aguilar, quien además logró el permiso para desarrollar pequeña minería en el área donde también se ubica la mina La Cumbraera.

En el 2014 Aliaga se asoció con Celso Pacheco Yábar, ex consejero regional de Cusco en el periodo 2003-2006, para desarrollar su proyecto que se encuentra en proceso de formalización. La sociedad se quebró a mediados de este año. Ambos se acusan de haberse querido apoderar de la inversión realizada. Las minas, en tanto, son controladas por los mineros de La Rinconada y los comuneros de Parccocalla y de Callhua. Estos mantienen discrepancias en torno al territorio, y están divididos pues los primeros apoyan a Pacheco y los otros a Aliaga.

LA ZONA DEL CONFLICTO



CIFRAS

100.000

SOLES
es el precio mínimo por cada kilo de oro solicitado por los mineros ilegales en Ocongate, localidad cusqueña donde se realiza la mayoría de transacciones.

10

KILOS
de oro en promedio se producen cada día en las minas Qori Auquilla y La Cumbraera. El metal es trasladado en camionetas que se encuentran bajo custodia.

PROCESOS

ACUSACIÓN

Marciano Aliaga ha denunciado a Celso Pacheco por la presunta invasión del área concesionada a la minera Kinacox.

NEXO

Pacheco integra el directorio de la empresa Vlacemmy, con el ex director regional de Energía y Minas del Cusco Vladimir García Bravo.

INVOLUCRADA

El cargo del ex funcionario es ocupado actualmente por su esposa Roxana Amézquita Jiménez, quien señaló que se mantendrá neutral en el conflicto suscitado.

INTERDICCIÓN

Fuentes del Ministerio Público revelaron a este Diario que ya han solicitado una interdicción en las minas ilegales, donde además se usan compresoras, rotomartillos y retroexcavadoras.

ALISTAN PROTESTA

Qoyllur Riti está bajo amenaza

Las concesiones mineras que se han dado en Ocongate y el avance de los extractores ilegales de oro han causado la alarma en las organizaciones de peregrinos del Señor de Qoyllur Riti, pues aseguran que el santuario situado en este distrito y la festividad religiosa—catalogada por la Unesco como parte del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad—están en peligro.

Dirigentes de las provincias de Quispicanchi, Paucartambo, Paruro, Canchis, Urubamba y Arema, junto con unos 30 mil peregrinos, tienen previsto arribar a Cusco donde realizarán una movilización para exigir la nulidad inmediata de las concesiones otorgadas alrededor del santuario y la modificación de la Ley N° 27651 (Ley de Formalización y Promoción de la Pequeña Minería y la Minería Artesanal).

Fuente: Diario El Comercio, 2015

ZONAS CONTAMINADAS CON MERCURIO EN LA REGIÓN DEL CUSCO

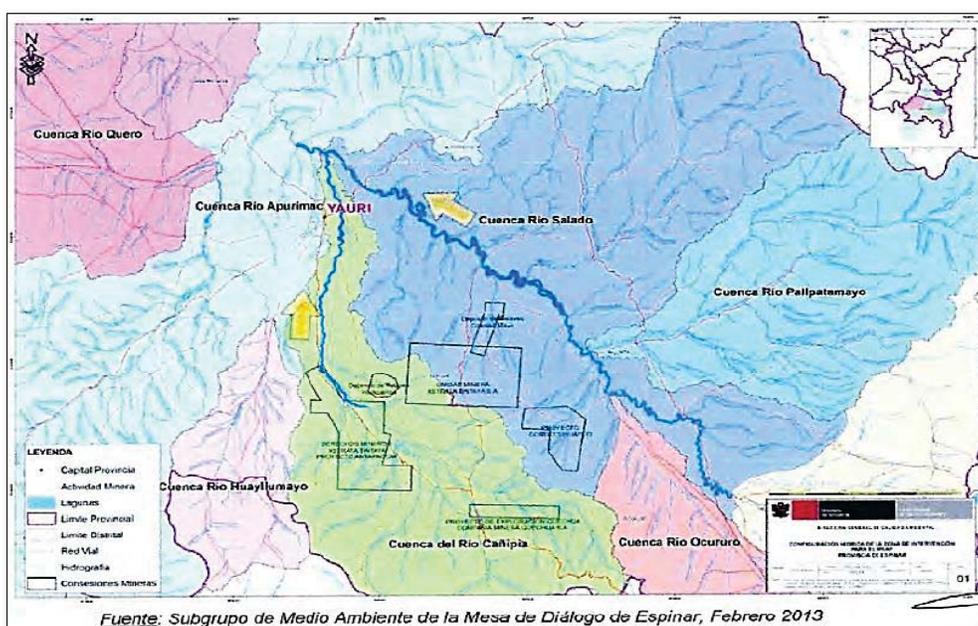
Informe Final Integrado de Monitoreo Sanitario Ambiental Participativo de la Provincia de Espinar - 2013 (OEFA)

ÁMBITO DE INTERVENCIÓN

La zona de intervención se ubica en la provincia de Espinar, Cusco, la cual tiene una extensión de 5,311.09 km². Está ubicada en una zona frígida, sus temperaturas medias oscilan entre 8.6 °C y 17.2 °C. El área de estudio se localiza sobre los 4,000 msnm. Involucra las cuencas de los ríos Cañipía, Salado y sectores de las cuencas de los ríos Apurímac, Condoroma y Huichuma. Se mantuvo mayor énfasis en las áreas cercanas a las operaciones de Tintaya, Antapaccay y Corcohuayco, bajo administración de la empresa Xstrata Tintaya S.A.; y el Proyecto Quechuas, de la Compañía Minera Quechuas, conforme se muestra en el siguiente Mapa.

El ámbito de intervención considera también el análisis de los resultados por microcuencas.

Configuración Hídrica de la Zona de Intervención para el MSAP2



Para las evaluaciones sanitarias, se emplearon los siguientes protocolos:

Cuadro N°02. Protocolos de referencia por Componente Biológico e Institución.		
Componente	Protocolo	Institución
Agua destinadas al consumo humano	"Reglamento de la Calidad de Agua para Consumo Humano", aprobado con D.S. N° 031-2010-SA.	Digesa
Muestras biológicas de seres humanos	Protocolo de investigación aprobado por el Comité de Investigación y por el Comité de Ética del INS: "Determinación de la Exposición a los Metales Pesados: Cadmio, Arsénico, Plomo, Talio, Manganeso y Mercurio en las Comunidades de Huisa y Alto Huancané, en el distrito de Yauri-Espinar, Provincia de Espinar, Departamento de Cusco". "Colección, Conservación, Almacenamiento, Transporte y Recepción de Muestras Biológicas para Determinación de Metales Pesados", PRP-Censopas-INS-2010.	Censopas-INS
Muestras biológicas en animales	"Procedimiento, toma y envío de muestras para el control de residuos de medicamentos veterinarios y contaminantes en alimentos de origen animal" (PRO-UCCIRT/RES 03).	Senasa

- **Sedimentos analizados - Cuenca Cañipía.**

De las 942 determinaciones analíticas, se encontraron 35 (3.72%), distribuidas en 23 puntos, que no cumplen con los valores tomados como referencia: el PEL —Probable Effect Level de la "Canadian Environmental Quality Guides" (CEQG)- y el ISQG ("Interim Sediment Quality

Guideline"). Es importante aclarar que para la elaboración del mapa solo se han considerado aquellos puntos donde al menos un parámetro supera el PEL.

- nQCcol-01 (Quebrada Ccoloyo), ubicado aguas abajo de la presa de relaves Huinipampa de la minera Tintaya: las concentraciones de arsénico (32.4 mg/Kg) y el **mercurio** (1.23 mg/Kg) superan el ISQG.

- **Sedimentos analizados - Cuenca Salado**

En los sedimentos del río Chaquilla (RChaq-01), las concentraciones de arsénico (36.6 mg/Kg), **mercurio** (1.9 mg/Kg) y plomo (99.09 mg/Kg) fueron mayores al valor del ISQG, aunque menores que el PEL.

- **Fuentes superficiales**

En fuentes superficiales se han evaluado 13 puntos: ocho en la cuenca del río Cañipía y cinco en la del río Salado.

En la cuenca del Cañipía, cuatro muestras de agua tomadas en fuentes superficiales presentan valores de **mercurio que superan el ECA Agua**.

Categoría 3 - Bebidas de Animales (Hg = 0.001mg/L. Dos de estas muestras corresponden a la localidad de Alto Huarca: la RCCAP1, tomada en el riachuelo Kachachi, donde se registró **0.0013 mg/L** y la RCCAP2, del riachuelo Sallicatemayo, en el que se midió **0.0025 mg/L**. La tercera (RCCA P10) procede de la bocatoma del canal de riego Suchiñahui, en la localidad de Huisa, que arrojó una concentración de **0.0012 mg/L**. La cuarta (RCCAP17) corresponde a la localidad de Yauri Espinar y fue tomada en el ingreso de la planta de tratamiento Virgen de Chapi. Allí el nivel de mercurio fue de **0.0034 mg/L**.

- **Manantiales**

Se superó el ECA, en dos muestras de la localidad de Huisa: la muestra RCCAP19, correspondiente al manante Ccoatiana, y la RCCAP24, del manante Miskipujio. Los valores hallados fueron **0.0021 mg/L** y **0.0025 mg/L** respectivamente.

- **Componentes del sistema: piletas, reservorios, salida de planta de tratamiento**

Dicha muestra excede además el valor de mercurio establecido en el D.S. N°031-2010-SA (0.001mg/L). Se encontró **0.0059mg/L**.

A. Resultados en seres humanos

Participaron 180 habitantes en el estudio de los aproximadamente 500 residentes empadronados en estas dos comunidades. Se tuvo representatividad de ambos géneros y de todos los grupos etáreos (ver Cuadro 30).

Cuadro N° 30. Características Demográficas de la Población participante. Distrito de Espinar, 2013				
GÉNERO	Alto Huancané	Huisa	TOTAL	%
Femenino	29	65	94	52.2%
Masculino	39	47	86	47.8%
EDAD				
<18 años	3	35	38	21.1%
18 a 50 años	21	53	74	41.1%
>50 años	44	24	68	37.8%
TOTAL	68	112	180	100.0%

Fuente: Subgrupo de Medio Ambiente de la Mesa de Diálogo de Espinar, Febrero 2013

El análisis de las 180 muestras de orina de los participantes evidenció exposición a arsénico, cadmio, plomo, manganeso, **mercurio** y talio en la mayoría de los participantes.

Si se define a una "persona expuesta" como aquella que tiene niveles de metales detectables en orina, el análisis de las 180 muestras de orina evidenció exposición a arsénico (100%), cadmio (93%), manganeso (70%), **mercurio (88%)**, plomo (100%) y talio (100%) en los participantes del estudio.