

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO,
MEDIANTE EL USO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍTICA *Glomus
intraradices* EN RAÍCES DE *Helianthus annuus*, EN CONDICIONES
DE INVERNADERO**

PRESENTADA POR:

Br. PAOLA DYANNE YABARRENA AGUIRRE

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

ASESORA:

Dra. GRETA MARGOT PAIVA PRADO

FINANCIADA POR EL PROGRAMA

**“YACHAYNINCHIS WIÑARINANPAQ-
UNSAAC”**

CUSCO – PERÚ

2023



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Greta Margot Paiva Prado quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: Fitorremediación de suelos contaminados con plomo, mediante el uso de la asociación micorrizica Glomus intraradices en raíces de Helianthus annuus, en condiciones de invernadero

Presentado por: Paola Dyanne Yabariena Aguirre DNI N° 72040516;
presentado por: DNI N°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de Biólogo

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 0 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	☒
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	☐
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	☐

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 26 de agosto de 2025

Greta Margot Paiva Prado
Firma

Post firma Greta Margot Paiva Prado

Nro. de DNI 23834197

ORCID del Asesor 00002-0002-3114-3923

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 772591487283459

PAOLA YABARRENA AGUIRRE

FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO, MEDIANTE EL USO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍTIC...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:487283459

119 páginas

Fecha de entrega

26 ago 2025, 8:50 p.m. GMT-5

25.679 palabras

134.628 caracteres

Fecha de descarga

26 ago 2025, 9:09 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

Tesis - Paola Yabarrena Aguirre (rev David).docx

Tamaño del archivo

2.4 MB

0% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado

Fuentes principales

- 0%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
55 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
1 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.


 DRA. GRETA MARGOT PAIVA PRADO
 DOCENTE PRINCIPAL
 COD ORCID: 0000-0002-3114-3923

DEDICATORIA

A mi mamá Roseamery, por su exigencia y apoyo incondicional, por todos los sacrificios que hizo para que podamos estar juntas.

A mi abuelita Doris, por la disciplina y cariño con el que me crió durante toda mi vida.

A mis tías Angélica y Carmen, por haberme cuidado y engreído siempre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haber guiado mi camino.

A La Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco por haberme acogido durante todos los años de mi formación profesional y por las oportunidades brindadas.

A mi familia por haber creído en mis sueños desde que era pequeña, y por haberme ayudado a cumplirlos.

A mi asesora Dra. Margot Paiva Prado, por el tiempo, el apoyo y las facilidades que me brindó durante la realización de la presente investigación.

Al Vicerrectorado de Investigación de la UNSAAC y al programa Yachayninchis Wiñarinpapaq por el financiamiento de mi tesis.

A los docentes de la Escuela Profesional de Biología, por haberme inspirado a ser un poco mejor cada día.

A mis amigos, David Guevara, Joaquín Clavijo, Jared Guevara, Rolando Chaparrea, Jack Rodríguez, Hamlet Maza, Brandon Soto, Ayde Llancay, y a mi primo Renzo Rivas, por la predisposición a ayudarme sin dudar en la realización de mi tesis.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
Objetivo General	7
Objetivos Específicos	7
HIPÓTESIS	8
Variables independientes:	8
Variables dependientes:	8
CAPÍTULO I	9
GENERALIDADES	9
1.1. ANTECEDENTES	9
1.1.1. Antecedentes Internacionales	9
1.1.2. Antecedentes Nacionales	11
1.2. MARCO TEÓRICO	12
1.2.1. Minería y contaminación en el Perú	12
1.2.2. Metales pesados en el suelo	14
1.2.3. Biodisponibilidad de metales pesados en el suelo	15
1.2.4. Contaminación de suelos	16
1.2.5. Plomo	20
1.2.6. Remediación de suelos	23
1.2.7. Biorremediación	25
1.2.8. Girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	30
1.2.9. Micorrizas	32
1.2.10. Micorrizas y metales pesados	35
1.2.11. Glomalina	37
1.2.12. Factores de concentración	37
CAPÍTULO II	39
MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.1. ÁREA DE ESTUDIO	39
2.2. MATERIALES	39
2.2.1. Material biológico	39
2.2.2. Material de campo	39
2.2.3. Material de laboratorio	39
2.2.4. Contaminantes	40

2.3. METODOLOGÍA	40
2.3.1. Análisis físico y químico del suelo de cultivo	40
2.3.2. Acondicionamiento del experimento	40
2.3.3. Porcentaje de colonización micorrítica	43
2.3.4. Parámetros biométricos	44
2.3.5. Análisis de Espectrometría de Absorción Atómica	44
2.3.6. Análisis estadístico	46
CAPÍTULO IV	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1. RESULTADOS	48
4.1.1. Análisis físico y químico del suelo de cultivo	48
4.1.2. Porcentaje de la colonización micorrítica en las raíces de girasol	48
4.1.3. Parámetros biométricos	49
4.1.4. Concentración de plomo en los suelos de cultivo	54
4.1.5. Análisis estadístico	58
5.- DISCUSIÓN	67
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	72
BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXOS	88
ANEXO A: Galería de fotos	88
ANEXO B: Tablas de resultados	98
Factor de bioconcentración y translocación	100
ANOVA - Suelo	101
ANOVA - Raíz	103
ANOVA - Órganos Aéreos	105
ANEXO C: Tabla de datos meteorológicos	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Acetato de Plomo Trihidratado por Kg de suelo de cultivo, y cantidad aplicada para 5 kg de tierra.	42
Tabla 2. Resultado de los análisis físicos y químicos del suelo de cultivo.	48
Tabla 3. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de <i>Helianthus annuus</i> .	49
Tabla 4. Resultados de los parámetros biométricos	98
Tabla 5. Concentración de plomo en raíces, órganos aéreos y suelo, a los 40, 80 y 120 días, en base a 4 diferentes concentraciones.	99
Tabla 6. Factor de bioconcentración en raíces y órganos aéreos.	100
Tabla 7. Factor de translocación.	100
Tabla 8. Análisis de Varianza Multifactorial para Suelo	101
Tabla 9. Medias por Mínimos Cuadrados para Suelo con intervalos de confianza del 95.0%	101
Tabla 10. Resultado de Múltiple Rangos para Suelo por Tratamiento.	102
Tabla 11. Contraste de Múltiple Rangos para Suelo por Tratamiento.	102
Tabla 12. Análisis de Varianza Multifactorial para Raíz	103
Tabla 13. Medias por Mínimos Cuadrados para Raíz con intervalos de confianza del 95 %	103
Tabla 14. Resultado de Múltiple Rangos para Raíz por Tratamiento.	104
Tabla 15. Contraste de Múltiple Rangos para Raíz por Tratamiento.	104
Tabla 16. Análisis de Varianza Multifactorial para Órganos Aéreos	105
Tabla 17. Medias por Mínimos Cuadrados para Órganos Aéreos con intervalos de confianza del 95.0%	105
Tabla 18. Resultado de Múltiple Rangos para Órganos Aéreos por Tratamiento.	106
Tabla 19. Contraste de Múltiple Rangos para Órganos Aéreos por Tratamiento.	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases de la fitorremediación (modificado de University of Sydney, 2018)	32
Figura 2. Hongo micorrítico arbuscular (Aurea systems GmbH, 2012)	36
Figura 3. Distribución en bloques randomizados de plántulas de <i>Helianthus annuus</i> con el contaminante.	42
Figura 4. Valores promedio de la Longitud de tallo (cm) de <i>Helianthus annuus</i> , en base al control y a los 4 tratamientos empleados.	50
Figura 5. Valores promedio del Peso del tallo (g) de <i>Helianthus annuus</i> , en base al control y a los 4 tratamientos empleados.	51
Figura 6. Valores promedio de la Longitud de la raíz (cm) de <i>Helianthus annuus</i> , en base al control y a los 4 tratamientos empleados.	52
Figura 7. Valores promedio del peso de la raíz (cm) de <i>Helianthus annuus</i> , en base al control y a los 4 tratamientos empleados.	53
Figura 8. Valores promedio del número de hojas de <i>Helianthus annuus</i> , en base al control y a los 4 tratamientos empleados.	54
Figura 9. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 40 días de tratamiento.	55
Figura 10. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 80 días de tratamiento.	56
Figura 11. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 120 días de tratamiento.	57
Figura 12. Medias obtenidos de la variable suelo al 95.0% Fisher LSD de Tukey.	59
Figura 13. Interacciones Suelo-Tiempo.	60
Figura 14. ANOVA para Raíz.	61
Figura 15. Medias obtenidos de la variable raíz al 95% Fisher LSD de Tukey.	62
Figura 16. Interacciones Raíz.	63
Figura 17. ANOVA para Órganos Aéreos.	64
Figura 18. Medias obtenidos de la variable Órganos Aéreos al 95%	65

Fisher LSD de Tukey.

Figura 19. Interacciones Raíz.	66
Figura 20. Micorrizas de la especie <i>Glomus intraradices</i> de la marca Mycosym Triton.	88
Figura 21. Llenado de los baldes de 5 L. de capacidad con suelo de cultivo.	88
Figura 22. Etiquetado de los baldes con las plántulas trasplantadas.	88
Figura 23. Distribución randomizada de las plántulas de girasol.	88
Figura 24. Finalizado el trasplante de las plántulas de girasol.	89
Figura 25. Proceso de secado de la tierra negra para su posterior contaminación.	89
Figura 26. Tamizado de la tierra negra.	89
Figura 27. Eliminación de piedras y otros elementos extraños de la tierra negra.	89
Figura 28. Limpieza de las raíces de los plantones de girasoles.	90
Figura 29. Preparación para pesado de 5 kg de tierra negra para cada maceta.	90
Figura 30. Pesado de los 5 kg de tierra negra para cada maceta.	90
Figura 31. Asistente de campo con los implementos de bioseguridad para la manipulación del Acetato de Plomo Trihidratado.	90
Figura 32. Cálculo del Acetato de Plomo Trihidratado de acuerdo a la concentración requerida para cada planta.	91
Figura 33. Pesado del Acetato de Plomo Trihidratado de acuerdo a la concentración requerida para cada planta.	91
Figura 34. Selección de las plántulas por características biométricas.	91
Figura 35. Plántulas que tenían similares características biométricas.	91
Figura 36. Mezclado de los 5 kg. de tierra negra con el Acetato de Plomo Trihidratado.	92
Figura 37. Monitoreo de los plantones de girasol durante los 40 días del experimento.	92
Figura 38. Monitoreo de los plantones de girasol durante los 40 días	92

de duración del experimento.

Figura 39. Crecimiento de flores en los plantones de girasol en el experimento.	92
Figura 40. Monitoreo de los plantones de girasol durante los 80 días de duración del experimento.	93
Figura 41. Monitoreo de los plantones de girasol durante los 120 días de duración del experimento.	93
Figura 42. Monitoreo de crecimiento de flores de girasol.	93
Figura 43. Monitoreo de crecimiento de flores de girasol contaminadas con plomo.	93
Figura 44. Monitoreo de girasoles que sus flores no maduraran.	94
Figura 45. Alteraciones morfológicas en los folíolos de los plantones de acuerdo a la concentración del contaminante.	94
Figura 46. Alteraciones morfológicas en toda la plántula de acuerdo a la concentración del contaminante.	94
Figura 47. Alteraciones morfológicas en las hojas de los plantones de acuerdo a la concentración del contaminante.	94
Figura 48. Pesado de las muestras de raíces y zona aérea de los girasoles.	95
Figura 49. Muestras de tierra, raíces y zona aérea de los girasoles.	95
Figura 50. Observación del crecimiento de las raíces de los girasoles.	95
Figura 51. Medición de la longitud del tallo de los girasoles.	95
Figura 52. Modificaciones morfológicas en el tallo de los girasoles.	96
Figura 53. Modificaciones morfológicas en las inflorescencias de los girasoles.	96
Figura 54. Modificaciones morfológicas en las plántulas de los girasoles.	96
Figura 55. Modificaciones morfológicas en los sépalos de los girasoles.	96
Figura 56. Medición de la longitud de las raíces de los girasoles.	97
Figura 57. Pesado de las muestras de hojas y tallos de los girasoles.	97

ÍNDICE DE TERMINOS Y ABREVIATURAS

HMA	:	Hongo micorrizo arbuscular
HFMA	:	hongos formadores de micorrizas arbusculares
BCF	:	Factor de bioconcentración
TF	:	Factor de translocación
ppm	:	Partes por Millon
EEAA	:	Espectometría de Absorción Atómica
PAH	:	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
ANOVA	:	Análisis de Varianza
RfD	:	Dosis de Referencia
RE	:	Efectividad relativa de la dosis
TBi	:	Antecedentes de asimilación
µg	:	Microgramos
Pb	:	Plomo
Cd	:	Cadmio
Cu	:	Cobre
Zn	:	Zinc
U	:	Uranio
Ni	:	Níquel
Absorción	:	Fenómeno físico que implica la difusión de masa en el que uno o más componentes de una mezcla gaseosa se disuelven en un líquido.
Adsorción	:	Fenómeno físico, en donde un compuesto en fase líquida entra en contacto con un sólido adsorbente y se adhiere a la superficie del mismo, mediante una fuerza física (fuerza de dispersión de London), este proceso no implica intercambio de electrones, lo que lo hace reversible.

RESUMEN

Esta investigación evaluó la capacidad fitorremediadora del girasol (*Helianthus annuus*) en asociación micorrítica con el hongo *Glomus intraradices* en suelos contaminados experimentalmente con plomo, utilizando concentraciones de 400, 800, 1200 y 1600 ppm en condiciones controladas en el Cusco.

Durante periodos de 40, 80 y 120 días, se analizaron parámetros biométricos de crecimiento, el porcentaje de colonización micorrítica y la absorción de plomo mediante Espectrometría de Absorción Atómica, evaluando factores de bioconcentración y translocación.

Los resultados indicaron que las micorrizas colonizaron en promedio menos del 50% de las raíces. Los factores de bioconcentración y traslocación fueron menores a uno, lo que demuestra que los hongos reducen la migración del metal hacia los órganos aéreos al atrapar una mayor cantidad en el sistema radicular. El análisis estadístico mediante ANOVA multifactorial confirmó que la asociación influyó significativamente en la remoción del plomo del suelo, así como en su presencia en raíces y órganos aéreos, obteniendo los mejores niveles de remoción a los 40 días de evaluación.

Se concluye que el uso de esta asociación micorrítica constituye una alternativa biotecnológica efectiva y económica para la descontaminación de suelos a mediano plazo.

Palabras claves: *Helianthus annuus*, Girasol, *Glomus intraradices* plomo, Fitorremediación, HMA.

INTRODUCCIÓN

En el Perú existen diversas fuentes de contaminación por plomo, como la industria automotriz, extracción minera, desecho de baterías, agroquímicos, entre otras, el plomo emitido al ambiente se almacena principalmente en fuentes de agua y superficies terrestres, generando una acumulación de plomo en cultivos agrícolas, ganado, peces, además de estar presente en los envases que se usan para su almacenamiento, alimentos que posteriormente son ingeridos por los seres humanos. El plomo tiene una serie de efectos negativos en la salud del hombre, afectando de forma más severa al sistema renal, cardiovascular, sanguíneo y gastrointestinal.

La biorremediación aparece como una alternativa para la descontaminación de aquellos suelos que presentan agentes contaminantes, se define como un proceso en el cual se emplean microorganismos, plantas y hongos, los cuales van a “retornar a un medio ambiente alterado a sus condiciones naturales” (Toro & Quirama, 2012).

El girasol (*Helianthus annuus*), es una planta hiperacumuladora de metales pesados (Pd, Cd, Cu, elementos radiactivos), con gran tolerancia a sitios con alta presencia de dichos contaminantes, esto debido a la gran producción de biomasa, rápido desarrollo, además de absorberlos en sus raíces, lo cual permite su fitoextracción (Vargas Muñoz, 2013).

Las micorrizas, instauran una simbiosis mutualista con la mayoría de plantas arbusculares, en especial, de aquellas que habitan suelos con un bajo estado nutricional, mejorando la capacidad de absorción de estas al incrementar el área de exploración de las raíces, la importancia de las micorrizas en los procesos de biorremediación radica en la capacidad que poseen para inmovilizar a los metales pesados y reducir su translocación a los órganos aéreos de la planta. Como consecuencia, se tiene el flujo de los metales en la cadena trófica (Cabello, 2001; Pineda, 2004).

El objetivo en este proyecto de investigación, fue generar propuestas de biorremediación aplicables a suelos contaminados con Plomo evaluando el

potencial de fitorremediación de la asociación micorrítica de *Glomus intraradices* en las raíces de girasol frente a este contaminante en condiciones controladas en invernadero en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La OMS atribuye la presencia de plomo a actividades como metalurgia, minería, fabricación de pinturas, tuberías, y otros materiales que son fuentes de contaminación de este metal. En los últimos años, el registro de plomo en alimentos de origen agrícola viene en aumento, en especial en aquellos que provienen de suelos cercanos a zonas de explotación minera y áreas donde se almacenan desechos domésticos e industriales, como en la Oroya, zona en la cual la contaminación por presencia plomo tiene una existencia de más de 90 años, lo que la convierte en una zona no apta para vivienda, y las aguas del río Mantaro no son aptas para riego de cultivos.

El Perú, al ser un país polimetálico, con una amplia presencia de la actividad minera a lo largo de su territorio, posee una mayor exposición al plomo y sus compuestos, y a su vez a los efectos negativos de este metal en la salud de la población.

La problemática expuesta permite plantear las siguientes preguntas:

¿Cuál es la capacidad fitorremediadora de *Helianthus annuus* en asociación con *Glomus intraradices* frente a concentraciones del plomo presente en el suelo?

- ¿Cuál es el porcentaje de colonización micorrízica en raíces de *Helianthus annuus* y el desarrollo morfológico de las plantas?
- ¿Cuál es el nivel residual de Plomo en suelo después de la aplicación del tratamiento fitorremediadora los 40, 80 y 120 días del experimento?
- ¿Qué cantidad de plomo es absorbido por parte de las raíces y órganos aéreos a los 40, 80 y 120 días ?

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la fitorremediación aparece como una alternativa económica, para la rehabilitación de suelos y aguas contaminadas con elementos provenientes de actividades antrópicas, además de ser altamente efectiva a largo plazo (J. M. Garzón et al., 2017).

En el caso de las etapas de cierre de minas, una actividad ampliamente desarrollada en el Perú (BBVA Research, 2017), la fitorremediación es una alternativa viable. Una organización dedicada a la extracción de minerales puede optar por el uso de esta tecnología, por ser asequible, y amigable con el ambiente, pues al realizarse experimentalmente no se corre el riesgo de que el contaminante sea esparcido en el ambiente (Beltrán-Villavicencio, 2001).

Este proyecto puede generar nuevas líneas de investigación, diversificando los métodos utilizados actualmente para remediar suelos y aguas contaminadas con plomo y como futura solución al momento de la formulación de proyectos mineros.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el proceso de fitorremediación de suelos contaminados experimentalmente con plomo mediante el uso de asociaciones micorríticas en raíces de *Helianthus annuus* en condiciones de invernadero.

Objetivos Específicos

- Analizar el proceso de desarrollo vegetal de *Helianthus annuus*, inoculación de *Glomus intraradices* y el porcentaje de colonización micorrítica exitoso en las raíces.
- Determinar la cantidad residual de plomo en los suelos, después de la aplicación del tratamiento, tomando en cuenta el factor de bioacumulación.
- Determinar el nivel de absorción de plomo, mediante análisis de las zonas radicular y foliar de los plantones, después de la aplicación del tratamiento, tomando en cuenta el factor de translocación.

HIPÓTESIS

Los plantones de *Helianthus annuus* con asociación micorrítica de *Glomus intraradices* en sus raíces u órganos aéreos poseen un alto potencial biorremediador de suelos contaminados con plomo (en condiciones de invernadero).

Variables independientes:

- Concentración de plomo en suelo (0 ppm, 400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm, 1600 ppm)
- Tiempo de evaluación (40 días, 80 días, 120 días)

Variables dependientes:

- Concentración del plomo en raíz y órganos aéreos.
- Plomo residual en suelo contaminado.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Antecedentes Internacionales

Vargas Muñoz (2013) en San Pedro Nexapa en México, inoculó *Rhizophagus intraradices*, junto con el proceso de germinación de las semillas de *Helianthus annuus*. Posteriormente aplicó Plomo y Cadmio a diferentes concentraciones, además del suelo testigo, realizando 5 repeticiones para cada uno de los metales, se realizó el análisis de raíz, tallo y flor en un equipo de Espectrometría de Absorción Atómica para determinar los niveles de absorción de Pb y Cd en las plantas. Concluyó que la presencia de estos elementos reduce la germinación de los girasoles, en aquellos que lograron desarrollarse, los girasoles micorrizados presentaron mayor potencial fitoextractor en las raíces, en el caso del Pb, mientras que en el Cd solo se presenta una tolerancia a este metal.

Ortiz-Cano et al. (2009) en la mina de la Comarca Lagunera en México, evaluó el potencial extractor de Plomo y Cadmio de *Amaranthus hybridus*, incorporando una mixtura de micorrizas arbusculares, a un sustrato contaminado con Plomo y Cadmio, con la realización de dos fases experimentales, una por cada metal, con un diseño experimental de bloques al azar con 4 repeticiones, los resultados indicaron que la incorporación de las micorrizas aumenta las concentraciones de Pb y Cd en raíz, tallo y hoja de *A. hybridus*.

Trejo-Calzada et al. (2013) en la Universidad Autónoma Chapingo en México, estudió el potencial de especies vegetales de zonas áridas para la fitorremediación de suelos contaminados de metales pesados. Analizó tejidos de plantas que crecieron en suelos contaminados, mediante espectrometría de

absorción atómica, para poder conocer la cantidad de plomo presente en ellas. La presencia de micorrizas incrementó significativamente el nivel de plomo en los tejidos de *Setaria verticillata*.

Martell (2014) en México, sometió especies vegetales 2 tratamientos, uno con EDTA y sin EDTA, en los resultados obtuvo que en presencia de EDTA concentró mayor cantidad de Plomo en la raíz, seguido por Cromo, Cobre, Níquel, Cadmio y Zinc, en el caso de *Beta vulgaris* L., y en *Lolium perenne* L., en presencia de EDTA el metal que más se concentró en las raíces fue de igual manera el Plomo, seguido por Cromo, Zinc, Cadmio, Níquel y Cobre.

Beltrán-Villavicencio (2001) en la universidad Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) Azcapotzalco de México, estudió la fitoextracción de cadmio y zinc con especies como Lechuga en dos variedades, calabacín y el girasol, cuyo principal objetivo fue el de estimar la capacidad asimiladora de Cadmio y Zinc, en un proceso de restauración de suelos. Se evaluó el crecimiento de las especies en condiciones de invernadero, con un control de humedad del suelo, temperatura y humedad relativa. Las especies vegetales redujeron hasta en un 50% las concentraciones de Cadmio y Zinc.

Chibuike & Obiora (2014) demostró que las plantas que crecen en suelos contaminados presentan una reducción en el tamaño y rendimiento, esto ocurre principalmente cuando el metal pesado no representa ningún tipo de beneficio sobre las especies vegetales. La fitorremediación posee un mayor enfoque que el uso de microorganismos, pero al combinar ambos, la efectividad es mayor, como la incorporación de micorrizas.

Morales & Logroño (2016) en Pichincha, Ecuador reportó un proceso fitorremediador de suelos contaminados con Cromo (VI), mediante la utilización de *Cucumis sativus*, la capacidad de absorción y desarrollo de la planta fue determinada por la germinación de semillas en suelos contaminados con el metal. Los resultados evidenciaron que las plantas presentan diferencias significativas frente al tratamiento testigo, pues las plántulas cultivadas en invernadero redujeron los niveles de cromo hasta en un 38%.

1.1.2. Antecedentes Nacionales

Chávez Rodríguez (2014) en la ciudad de La Oroya (Cerro de Pasco) y lago Junín (Junín), colectó 37 muestras vegetales de lugares con pasivos mineros, escogió 2 especies de los géneros *Calamagrostis* y *Nicotiana*, bajo un cultivo a 3 diferentes concentraciones de Plomo (700, 1000 y 1200 ppm). Junto a estas dos, cultivó *Vetiveria zizanoides*, para comparar el potencial fitorremediador. Concluyó que *Nicotiana* posee un mayor potencial biorremediador, debido a su rápido desarrollo de biomasa aérea.

Jara-Peña et al. (2014) en la provincia de Canta en Lima, trabajó en condiciones de invernadero evaluando 20 tratamientos, en 4 sustratos diferentes (30%, 60%, 100% y sin relave minero). Utilizó las especies *Solanum nitidum*, *Brassica rapa*, *Fuertesimalva echinata*, *Urtica urens* y *Lupinus ballianus*, redujeron significativamente su desarrollo en el sustrato con 100% de presencia de relaves mineros, con un mayor desempeño de *F. echinata*, presentando un mayor índice de tolerancia a los contaminantes.

Paiva (2015) en Cusco, evaluó la capacidad de absorción y acumulativa de plomo en la raíz, tallo, hojas e inflorescencias del *Amaranthus spinosus*, el cual fue sometido a diferentes concentraciones de dicho metal. Realizó 4 repeticiones, en macetas con suelo franco contaminado de manera artificial con Acetato de Plomo, transcurridos 20 días se trasplantaron a macetas. Luego de 136 días retiró las plantas y realizó un análisis de los suelos por el método de Espectrometría de Absorción Atómica. Se llegó a la conclusión de que *A. spinosus* tiene la capacidad de almacenar el plomo en sus tejidos, y de demostrar resistencia al metal.

Rivera & Lázaro (2017) en la estación experimental “El Mantaro” de la Universidad Nacional del Centro del Perú en Huancayo, evaluó la descontaminación de suelos contaminados con metales pesados (Cr, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb), para lo cual utilizó muestras en 3 etapas: antes, durante y después de la aplicación del tratamiento. La fitoextracción de los metales fue realizada

por la raíz, tallo, hojas, flores y semillas, disminuyendo considerablemente los niveles de metales pesados en los suelos.

Leon Menacho (2017) utilizando muestras provenientes de la minera Lincuna SAC en Ancash, desarrolló un proyecto de investigación en dos etapas, una de propagación y otra de aplicación del tratamiento. Las especies empleadas fueron *Juncus arcticus* Willd., *Achyrocline alata* Kunth, *Werneria nubigena* Kunth y *Hieracium sp.*, la biomasa aérea y de la raíz disminuyó en *A. alata* durante el tratamiento, a diferencia de *W. nubigena* y *J. arcticus* que mantuvieron un desarrollo regular. *A. alata* presentó una mayor concentración Pb y Zn en sus raíces, de igual manera se presentó una cantidad significativa de Zn en la parte aérea de esta, *W. nubigena* obtuvo valores elevados de Zn en la zona aérea, *J. arcticus* presentaba mayores cantidades de Zn y Cu en la zona aérea. Como conclusión se tiene que dichas especies altoandinas poseen un alto potencial biorremediador, por su alta tasa de propagación y su capacidad acumuladora de metales pesados.

Lama Segura (2018) en la universidad Agraria La Molina en Lima, utilizó girasoles (*Helianthus annuus*) para proponer una estrategia de fitorremediación con un hongo micorrítico arbuscular, para comprobar la eficiencia utilizó aguas de riego contaminadas con plomo (para simular contaminaciones de gasolina en cuerpos de agua) utilizando como parámetros la cosecha en 49, 71 y 101 días. Concluyó que conforme el riego aumentaba, la efectividad del girasol inoculado con HMA incrementó la extracción con plomo.

1.2. MARCO TEÓRICO

1.2.1. Metales pesados en el suelo

Los metales, pueden encontrarse en el suelo, de diversas formas, ya sea como ión libre en forma compleja en la disolución del suelo o en forma intercambiable en la fracción coloidal del suelo. Además puede formar parte de minerales secundarios, primarios y complejos insolubles en la fase sólida del suelo (González Rodríguez et al., 2009).

La perceptibilidad de metales pesados en el suelo, se da de diversas formas. La más común es por intervención del hombre, ya sea de una manera industrial o agrícola, creando depósitos de plomo, zinc, cobre, por actividades como minería, curtiembre, automotriz. Estos pueden provenir también de yacimientos naturales, donde la biota circundante está adaptada a altas concentraciones de dichos elementos. Dependiendo de estas actividades, habrá presencia mayor o menor de metales pesados, los cuales son en su mayoría perjudiciales, pues condicionan la calidad del suelo, el desarrollo y crecimiento de diversas especies vegetales, se aminora la capacidad de este para el enraizamiento de las plantas (Acevedo et al., 2005; Puga et al., 2006).

La presencia de un determinado metal pesado en el suelo, va a ser relevante dependiendo de su concentración, pues no siempre es perjudicial, en algunos casos es parte de los nutrientes requeridos para el crecimiento de vegetación, pero cuando se exceden estos niveles, se presenta un problema para el ambiente y la salud humana (García et al., 2002). Los metales usualmente se encuentran en bajas concentraciones en la superficie, quedando a disposición de plantas y microorganismos, el peligro que va a representar la presencia de dichos elementos en el suelo, no solo depende de su concentración, sino de su biodisponibilidad, la movilización de estos de un organismo a otro (Huertos & Baena, 2008; Puga et al., 2006).

1.2.2. Biodisponibilidad de metales pesados en el suelo

La biodisponibilidad de los metales en el suelo, viene a ser el grado en que estos pueden ser absorbidos o metabolizados por un organismo vivo, por lo general, la fracción biodisponible de los metales es relativamente baja. Las reacciones químicas entre metales pesados y la composición del suelo, determinan cuán biodisponible será un metal. Las actividades humanas, son también determinantes, ya que mientras mayor sea la contaminación de los suelos, es más alta la probabilidad de que un metal sea biodisponible para ser capturado por organismos vivos, los cuales pueden acumularlo en el organismo, y hasta 4 o 5 órdenes superiores. Estos elementos pueden abandonar el suelo

de diferentes maneras, tales como volatilización, lixiviación, erosión, entre otras, de no ser así, pasan a ser biodisponibles en el ambiente (González-Flores et al., 2011; Huertos & Baena, 2008; Segovia, 2014).

La actividad antropica modifica el nivel de concentración de los metales en el suelo, haciendo que sean más biodisponibles. En muchos países en vías de desarrollo, por el rápido crecimiento de la industria minera y actividades extractivas, no se tiene muy en cuenta el factor ambiental, y esto es aprovechado por las empresas, para explotar los minerales sin cuidar los recursos que se ven comprometidos en la actividad (Marquez et al., 2018).

1.2.3. Contaminación de suelos

1.2.4.1. Contaminación y polución

El suelo, es un recurso natural fundamental en la vida del hombre, proporciona una serie de servicios ecosistémicos como, paisaje, recreación, seguridad alimentaria, hábitat y reserva genética, entre muchos otros. Su estructura es modificada constantemente por las múltiples actividades económicas que desempeña el ser humano, por ejemplo la minería, agricultura, ganadería, desecho de residuos sólidos, etc. La contaminación del suelo se define como la presencia de elementos propios o ajenos a este, en cantidades superiores a las normales, las que afectan al recurso y a los organismos vivos que lo habitan. El suelo se encuentra contaminado, cuando su naturaleza física, química y biológica se ve alterada de manera negativa (Silva Arroyave & Correa Restrepo, 2009). Además genera una disminución de su capacidad para la producción de beneficios, lo cual genera un efecto en cadena, pues no solo este se ve afectado, sino todos los componentes con los que interactúa. Todas las actividades realizadas por el hombre generan una alteración en la composición de los suelos, de manera directa o indirecta, en el caso de la agricultura, el uso de pesticidas, abonos, nitrificantes, modifican la estructura y las funciones biológicas, físicas y químicas (López-Falcón, 2002).

La contaminación es mayor en países que son potencias mundiales, quienes muchas veces no le dan la importancia suficiente a este recurso. Desde el comienzo de la urbanización, el suelo ha sido tomado como un vertedero de residuos y desperdicios. Recientemente, el suelo se encuentra en la lista de prioridades de muchas naciones, conduciendo esto a una mayor investigación sobre mitigación y control de la contaminación del recurso suelo, de esta manera se han creado una serie de regulaciones sobre la emisión de desechos y los límites de ciertos contaminantes en el suelo (Rodríguez-Eugenio et al., 2018).

1.2.4.2. Tipos de contaminación del suelo

Uno de los contaminantes más importantes y preocupantes en la actualidad, es el vertimiento de residuos industriales, los que muchas veces son potencialmente tóxicos, esto debido a una mala planificación por parte de las empresas al momento de desecharlos (Navarro et al., 1995).

Los plaguicidas y biocidas usados en la agricultura, para el control de insectos y maleza, generan pérdida de horizontes del suelo, además de que al acumularse en este, llegan al ser humano a través de la ingesta de los productos derivados de dicha actividad (Lenoir et al., 2004). No solo contaminan los suelos, llegan a fuentes de agua a través de escorrentías, y también son absorbidos por las raíces. Su permanencia en el ambiente depende de elementos como, pH del suelo, tipo de suelo, cantidad de materia orgánica, etc (Izquierdo Rodas, 2017).

La contaminación por hidrocarburos, ya sea en suelos o aguas, es uno de los problemas más grandes, ocurre generalmente por un mal estado en las instalaciones o mala manipulación de estas (Pérez Casimiro et al., 2005). Los hidrocarburos y contaminantes derivados de compuestos orgánicos, siendo los más peligrosos los PAH's (hidrocarburos aromáticos policíclicos) componentes del petróleo, al ser liberados al ambiente, su degradación es lenta, por lo que proceden a acumularse en sedimentos, y organismos terrestres y acuáticos (Lenoir et al., 2004).

Los metales pesados en los suelo, llamados elementos traza, están representados por 59 elementos en la tabla periódica, los cuales se reparten en 5 grupos cationes (Ag^{+1} , Cd^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Cu^{+2} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2}), metales nativos (Hg, V), oxianiones (AsO_4^{+3} , CrO_4^{-2} , MnO_4^{-2} , HSeO_3^- , SeO_4^{-2}), halogenuros (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), y organocomplejos (Ag, As, Hg, Se, Te, Tl) (Huertos & Baena, 2008). La toxicidad de dichos elementos está determinada por la concentración en la que se encuentran, estos elementos no solo provienen de la actividad minera, también están presentes en fertilizantes, lodos residuales, pinturas, combustión de carbón, entre otros (Zúñiga, 1999).

La disminución del pH de un suelo, genera mayor movilización de los metales pesados en las capas más superficiales, haciendo que estos sean más biodisponibles. A pesar de la capacidad autodepuradora del suelo, causada por la actividad de microorganismos descomponedores y actividades de oxidación, reducción, hidrólisis, etc. Depende mucho del tipo de metal y su concentración, para que dicha capacidad sea ejercida (C. García et al., 2002).

La reversibilidad de los daños causados al suelo, están directamente relacionados con la cantidad de contaminantes que en este se encuentran, pues si son abundantes, la recuperación del suelo será de larga duración (Mishra et al., 2016; Shayler et al., 2009).

1.2.4.3. Legislación en materia de suelos contaminados

La implementación de leyes que regulan el ejercicio de actividades que comprometen la calidad de los recursos se dio por una serie de hechos, que afectaron no solo al medio ambiente, sino también a los pobladores de diversas localidades.

La preocupación por los recursos naturales en general, ha tenido un ascenso a lo largo de los años en América Latina, el recurso forestal fue el primero en llamar la atención de las autoridades, regulándose su explotación mediante la formulación de leyes. Argentina fue el primer país en realizarlo en 1948. A diferencia de éste, el recurso suelo ha sido relegado, no siendo tomado en

cuenta, como lo fueron el agua y aire, generando un desequilibrio en el sistema. Brasil, al poseer una extensión considerable en el continente sudamericano, posee una megadiversidad, por esto fue el primer país en promulgar leyes a favor del ambiente y sus recursos en general (Haro, 2007).

En el Perú, la legislación ambiental es específica para muchos temas, se enfoca en los recursos mineros, su explotación y aprovechamiento, pasivos ambientales mineros, cierre de minas, relaves, actividad de hidrocarburos, explotación de gas natural, agricultura, entre otros (MINAM, 2011). Es de los países más desarrollados en cuestión de normatividad; a pesar de eso, hay infinidad de conflictos sociales, pues muchas de estas leyes presentan ambigüedades (Uchiri et al., 2019). Desde la década de los 70, el gobierno puso énfasis en los reglamentos de la explotación de los recursos, especialmente por parte del sector privado, estas leyes presentaban vacíos que fueron aprovechados por dichas empresas, para no hacerse cargo de los daños que causaban al ambiente, por lo que en futuro se reforzaron, lo que generó un descenso por parte de la inversión privada (Glave, 2007).

1.2.4. Plomo

El plomo es un metal pesado, de baja fusión, color gris azulado, presente en la corteza de la tierra, por lo general no se encuentra como un metal, sino unido a otros componentes. Es usado en diversos productos como baterías, tuberías, municiones, entre otros. En los últimos años, los niveles de plomo en dichos productos, se han reducido o fueron reemplazados por otros, debido a lo peligroso que es este metal para el ambiente (Abadin, 2005).

La exposición al plomo, puede ocurrir cuando este es inhalado en forma de polvo, o por medio de productos que estén compuestos de plomo. Es nocivo para la salud, genera afecciones en la sangre, sistema nervioso, renal y cardiovascular, los niños expuestos al plomo presentan desarrollo cognitivo lento, deficiencias en el aprendizaje entre otros. Una prolongada exposición a altas dosis de plomo, tiene efectos cancerígenos en el futuro (EPA, 2011; WHO, 2010)

1.2.5.1. El plomo en los suelos

Tiene mayor presencia en capas superficiales, donde su concentración normal varía de 5-180 mg/kg aprox., y en áreas altamente contaminadas, sus valores ascienden hasta 8 g/kg, el impacto de la contaminación genera un desequilibrio en las concentraciones de plomo, volviendo a este peligroso; la biodisponibilidad del plomo va a depender mucho del pH del suelo en el que se encuentra, pues cambia su forma, un suelo ácido aumenta la disponibilidad del plomo, facilitando su absorción por parte de los organismos vivos (Acevedo et al., 2005; Oriundo Guarda & Robles Gomero, 2009).

Una de las actividades que aporta mayores niveles de plomo en el ambiente, es la del desecho y reciclaje de baterías ácidas, pues durante el proceso de recuperación del metal se vierten al ambiente grandes cantidades de plomo, esta actividad es preferible a su simple desecho, pero continúa siendo altamente contaminante, se estima que los suelos circundantes a las fábricas que se dedican a esta actividad poseen niveles de 51,000 mg/kg en suelos adyacentes a la planta y de 120 mg/kg a un kilómetro de distancia, y de 1000 mg/kg en los alrededores de la planta y de 100 mg/kg a 2 km de distancia en Canadá y Taiwán respectivamente (Cala & Kunimine, 2003).

La presencia de plomo como consecuencia de la actividad minera, es amplia en Perú, somos el primer proveedor de plomo en América Latina y sexto a nivel mundial, además de estar asociado a las minas de plata. Los relaves mineros, muchas veces se filtran hacia cuerpos de agua, llegando con más facilidad a los alimentos, pues estas aguas son usadas para el riego de los productos agrícolas. El parque automotor, igualmente contribuye en la contaminación por plomo, por la presencia de aditivos como el plomo tetraetilo en los combustibles, por lo que en poblaciones con un parque automotor creciente, son más propensos a sufrir afecciones consecuencia de la contaminación (MINSA, 2005).

El plomo también está presente en fertilizantes, ya sean fosfatados o nitrogenados, estos son ampliamente utilizados para la agricultura, al

depositarse en el suelo, son absorbidos por los sistemas radiculares de las plantas, y en otros casos, son directamente tomados por las hojas, de igual manera llegan a cuerpos de agua por escorrentía, magnificando su dispersión, de acuerdo al pH del suelo, serán más biodisponibles para los organismos vivo que se encuentran en los suelos, biomagnificarse en su paso a través de la red trófica (Martí et al., 2002).

1.2.5.2. Absorción de plomo por parte de las plantas

El plomo liberado por actividades humanas, no es un metal esencial para el desarrollo de la planta, a diferencia del Cu^{+2} o Fe^{+3} , que son necesarios para las diferentes actividades que realiza la planta. El plomo, al poseer carga positiva, se adhiere al complejo radicular de las plantas, para seguir la ruta apoplástica o simplástica; su absorción es regulada por factores como pH, tamaño de las partículas y capacidad de intercambio catiónico principalmente (Garcia, 2006; Sharma & Dubey, 2005). En altas concentraciones, el plomo resulta perjudicial para las especies vegetales, causando una pérdida de elasticidad en las paredes celulares, reduce el crecimiento radicular así como la presencia de células mitóticas, clorosis, reducción del desarrollo, puede inhibir la fotosíntesis, modificación de la permeabilidad de la membrana, en especies como *Allium cepa*, las plantas desarrollan diferentes tipos de adaptaciones para hacerle frente a altas concentraciones de metales pesados en el suelo (Garcia, 2006; Hadi & Aziz, 2015; Méndez et al., 2009; Sharma & Dubey, 2005).

Las plantas desarrollan diferentes tipos de adaptaciones de acuerdo a la concentración de plomo que exista, una de las más comunes es la reducción de su biomasa aérea, más que en la zona radicular, a mayor concentración de plomo, menor es el desarrollo foliar, la mayor cantidad de plomo suele acumularse en la raíz, las hojas acumulan plomo, pero en menor proporción. Otro de los mecanismos de detoxificación por parte de las plantas, es el secuestro de plomo por la vacuola (Couselo & Corredoira, 2007; Sharma & Dubey, 2005).

1.2.5.3. Límites permisibles de plomo en el ambiente

La normativa con respecto a límites permisibles de contaminantes en el ambiente, está más enfocada en prevenir daños a la salud que al ambiente mismo. En el Perú, las concentraciones permitidas de plomo en suelos, dependen del tipo de actividad a la que está dirigida dicho substrato, igualmente, las cantidades varían de acuerdo al tipo de metal pesado, pues la biodisponibilidad y efectos colaterales de estos son diferentes (Presidencia del Consejo Ministros, 2013).

En general, se buscan estándares cuya presencia no sea riesgosa para la salud y el ambiente, basándose en indicadores como el de “Dosis de Referencia (RfD)”, el cual indica el consumo de determinado elemento, cuya ingesta no represente daños a largo plazo, igualmente la “Efectividad relativa de la dosis (RE)” la que expresa las diferencias entre la toxicidad de la sustancia, su biodisponibilidad y el estado nutricional del individuo, “Antecedentes de asimilación (T_{Bi})” expresa las posibles cantidades a las que el individuo puede estar expuesto durante toda su vida, sin que le causen mayores daños (Vázquez-Alarcón et al., 2005).

En España por ejemplo, la norma dice que un trabajador que labora 8 horas diarias durante una semana, no puede estar expuesto a más de 100 µg/ml de plomo en el ambiente, por lo que las concentraciones de dicho metal no pueden exceder los 70 µg/ml de sangre, por lo daños que puede ocasionar a la salud. En caso se excediera, deben tomarse acciones para revertirlo. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), la presencia de este metal en el organismo no debe ser superior a los 15 µg/dl, y para el Center of Disease Control de Estados Unidos, no debería ser superior a 10 µg/dl (Rodríguez & Espinal, 2008).

En poblaciones cercanas a lugares donde se realizan actividades industriales o mineras, los niveles de metales pesados por lo general sobrepasan los límites permisibles, incrementándose a lo largo de los años, mientras perduren las actividades, con respecto al ambiente, las concentraciones

varían, pues hay más dinamicidad en el sistema ambiental, que en un poblador, por lo que muchas veces se le resta importancia (Astete et al., 2014).

1.2.5. Remediación de suelos

Para la EPA (2011) el término remediación se resume en “cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado”. La remediación de suelos depende mucho del tipo de contaminante y características de este, además de su concentración, tipo de suelo, sus características específicas, procesos químicos, físicos y biológicos que se suscitan en este, y las actividades a las cuales es sometido, en conjunto determinan cual es la mejor técnica para recuperar los suelos (Volke Sepulveda, 2002).

Existen técnicas de aplicación *in-situ*, las que consisten en tratar al suelo en el lugar en que se produce la contaminación, la cual es más económica, pero requiere un mayor tiempo de ejecución, en comparación de las técnicas *ex-situ*, para las que se requiere una previa excavación del suelo para un posterior tratamiento, son mucho más costosas, pero también más rápidas, y usualmente con resultados más completos (Ortiz Bernad et al., 2007).

1.2.6.1. Tipos de remediación de suelos

Las tecnologías más usadas en los procesos de remediación de suelos, son las siguientes:

- a. **Desorción térmica:** se basa en la aplicación de calor con el objetivo de volatilizar y/o descomponer contaminantes orgánicos y metales pesados sin alterar la estructura física del suelo, no es lo mismo que incineración, pues las temperaturas son menores, además que el suelo puede ser re-utilizado en la posteridad (Emgrisa, 2016).

- b. Lavado de suelos:** su aplicación comenzó en Holanda en 1982, debido al creciente número de áreas contaminadas. Es una técnica de aplicación *ex-situ*, mediante la extracción física y química del suelo, seguida de un proceso de separación que logra disminuir la cantidad de contaminantes. Dicha extracción es realizada mediante el uso de diferentes soluciones extractantes, en especial agentes ácidos y quelantes, en cuyo proceso participan diversos factores como pH, tipo de suelo, capacidad de intercambio catiónico, presencia de materia orgánica, entre otros (Martínez et al., 2005).
- c. Extracción de vapores:** es un procedimiento por el cual se disgregan físicamente los contaminantes del suelo, este sistema extrae aquellos contaminantes que se volatilizan con facilidad, se realiza a través de un sistema de pozos que producen un vacío y los contaminantes suben a la superficie en forma de vapor o gas, adicional a los pozos de extracción, se sitúan pozos de inyección de aire para incrementar su corriente y mejorar el nivel de remoción del contaminante (EPA, 1996b).
- d. Extracción con solventes:** la base de esta técnica, es el uso de solventes, para separar contaminantes peligrosos del suelo, no hay una destrucción propiamente dicha de los contaminantes, sino que los concentra para facilitar su reciclaje, o sino destruirlos con otra técnica, la tierra, al entrar al extractor, se separa en tres fases: solvente con contaminantes disueltos, sólidos y agua. Es un proceso *in-situ*, que comienza con la excavación del suelo y su traslado a una criba para separar desechos de gran tamaño (EPA, 1996a).
- e. Tratamiento químico:** su principio son las reacciones redox, las que transforman compuestos tóxicos, en derivados que sean menos peligrosos, los que usualmente son más estables o inertes. Se usa principalmente para atacar compuestos inorgánicos, es aplicable tanto *in-situ* como *ex-situ*, en suelos, lodos, entre otros (Volke Sepulveda, 2002).

- f. **Inyección de aire o bioventing:** esta es una técnica de recuperación *in-situ*, la cual viene a ser la “ventilación forzada del suelo mediante la inyección a presión de oxígeno (aire) en la zona no saturada del suelo a través de pozos de inyección”, con este método, se van a degradar los contaminantes, por la volatilización y por biodegradación, por el proceso de oxidación, estimulándose la actividad bacteriana (Maroto & Rogel, 2004).

1.2.6. Biorremediación

Es una tecnología emergente, que se presenta como alternativa frente a las técnicas convencionales. Emplea el potencial metabólico de plantas, hongos, bacterias o enzimas que deriven de la actividad metabólica de las anteriores para el tratamiento de un medio contaminado. Es efectivo, pero suele encontrar impedimentos como: condiciones ambientales inapropiadas, carencia de nutrientes esenciales, los cuales limitan la acción biorremediante de dichos organismos. los cuales pueden biodegradar los contaminantes a compuestos más simples y fáciles de eliminar, o que generen menor impacto negativo en el ambiente (González Rodríguez et al., 2009; González Rojas, 2011; Sardrood et al., 2012).

Las bacterias son ampliamente usadas, pues tienen mayores límites de tolerancia, y prácticamente están presentes en todos los hábitats, una vez que son aplicados en la biorremediación de ambientes, pueden llegar a adecuar el lugar de acuerdo a sus necesidades, de esta manera modifican el hábitat, en esto el pH y las reacciones redox juegan un papel muy importante, las bacterias toman el contaminante del ambiente y pueden aprovecharlo para su beneficio transformándolo en energía, o algún otro compuesto que posteriormente será utilizado para sus actividades (Corredor et al., 2013).

Es beneficiosa para el ambiente, pues es menos intrusiva que otras técnicas que implican el uso de sustancias tóxicas, o que degradan el ambiente. Es ampliamente usada en Sudáfrica desde ya hace varios años, con un historial exitoso, económico, además de ser más aceptado por la población, por ser

ecoamigable (Heerden et al., 2013). Ha sido aprobado por entidades reguladoras a nivel mundial, por el hecho de tener un coste bajo en comparación con otras tecnologías, que muchas veces generan un impacto negativo en su intento por eliminar los contaminantes del ambiente (González Rojas, 2011).

1.2.7.1. Fitorremediación

La fitorremediación es una técnica basada en el uso de plantas para la extracción, estabilización y/o degradación de agentes contaminantes en el suelo, las cuales almacenan estos mayormente en las raíces y tejidos, explota el uso de plantas hiperacumuladoras y aquellas que son genéticamente modificadas, es una alternativa de la biotecnología, además de ser aplicable a múltiples escenarios, y actuar sobre todo tipo de contaminantes como, desechos municipales e industriales, lixiviados de minas, hidrocarburos, entre otros. Permite una regeneración del ambiente donde se utiliza, la cual es constante por el continuo crecimiento de la planta (Mojiri et al., 2013; Ríos et al., 2014).

Debido a la inminente explotación de recursos, y potencial contaminación de suelos, aguas y aire, la fitorremediación se presenta como una alternativa económica, y de aplicación más sencilla, comparada con otras tecnologías como la extracción con solventes, incineración, oxidación química; las cuales requieren una mayor inversión económica, además de tener efectos secundarios sobre el ambiente (Rajoo et al., 2016). Desde el comienzo de la era industrial, la explotación de recursos ha crecido de manera exponencial, las exploraciones petroleras, fundición de metales, minería, etc, causando grave daño al ambiente, muchas veces sin una alternativa de recuperación de las áreas afectadas durante la realización de estas actividades, es entonces cuando se le da un mayor énfasis a los beneficios de las plantas como especies remediadoras de suelos y aguas, pues estas absorben del substrato la mayoría de componentes, siendo esto peligroso para ellas, ya que en muchos casos, dejan de asimilar nutrientes importantes para su

desarrollo, y toman del ambiente otros compuestos que inhiben la absorción de otros (Bharti et al., 2014).

Es una tecnología efectiva, pero presenta una serie de desventajas, especialmente los pocos antecedentes, ya que es un proceso de larga duración. Algunas plantas presentan limitantes para crecer, si es que el ambiente no presenta características favorables para su desarrollo, la estacionalidad. Si la contaminación es excesiva, las plantas van a presentar dificultades para ejercer su efecto o simplemente o no van a completar su desarrollo (López et al., 2004).

Tipos de fitorremediación:

- a. Fitoextracción:** conocida como fitoacumulación o fitoabsorción, viene a ser la extracción de contaminantes por parte de las raíces de la planta y traslocarlo en su interior. Se usa para el tratamiento de suelos, sedimentos y lodos. Las ventajas, son que la planta puede aprovechar de alguna manera el contaminante que se extrae, mediante transformaciones en su estructura. Las desventajas que se presentan, son que las plantas reducen su crecimiento en la biomasa aérea, además que los metales pueden tener un efecto fitotóxico, por lo que las características más apropiadas de las plantas para esta actividad deberían ser: poseer un sistema radicular ampliamente distribuido, buena adaptación a condiciones ambientales extremas, tolerancia a efectos tóxicos, principalmente (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).
- b. Rizofiltración:** es la absorción de contaminantes por las raíces, en plantas acuáticas, de humedales, hongos o bacterias. Las raíces exudan y pueden precipitar los metales, dependiendo de qué tipo sean estos. Las ventajas que presenta son: pueden ser usadas in situ o ex situ, el sistema ex situ puede ser aplicado en cualquier lugar. Las desventajas de este tratamiento son: el pH debe ser ajustado para un resultado más óptimo, las plantas deben crecer previamente en un

invernadero y después ya comenzar el tratamiento (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).

- c. **Fitoestabilización:** se define como la paralización de los metales a través de la absorción y acumulación de estos en la raíz, esto para disminuir la biodisponibilidad de los contaminantes en el suelo, y el uso de plantas y sus raíces, para la prevención de la migración de la contaminación a través de lixiviación o erosión de suelos. La técnica implica una reducción de la valencia de los metales en la rizosfera, como ocurre por ejemplo con el Cromo IV, puede ser también una precipitación o complejización del metal. No es una solución permanente, pues el metal no va a desaparecer del suelo, solo se va a limitar su movimiento en este. No es necesaria una remoción de los suelos. Presenta un costo bajo, y puede favorecer la revegetación del área afectada (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).
- d. **Rizodegradación:** es la descomposición del contaminante por acción de microorganismos mejorada en la zona radical. La actividad de estos es favorecida por los exudados de la planta, como enzimas, aminoácidos, azúcares, aceites esenciales, etc, los cuales incrementan el metabolismo de los microorganismos hasta en cien veces, además se amplía el área de actividad de estas, a medida que se expanden las raíces. La degradación de los contaminantes es in situ, estos pueden mineralizarse. El tiempo necesario para que las raíces se expanden lo suficiente, es amplio, y la profundidad que alcancen puede ser limitada por la misma fisiología de la planta (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).
- e. **Fitodegradación:** es una degradación de los contaminantes en el interior de la planta, mediante procesos metabólicos, o a través de componentes producidos por esta, en la parte externa. Se limita a compuestos orgánicos, pues la planta no puede degradar metales pesados. Va a depender de la hidrofobicidad, solubilidad y polaridad de los compuestos, la principal ventaja, es la actividad independiente

de la planta al no depender de otros microorganismos, una de las desventajas, es la posibilidad de formación de componentes tóxicos (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).

- f. **Fitovolatilización:** es el ingreso de contaminantes a la planta, ya sean orgánicos o metales pesados como Se y Hg, los cuales serán emitidos a la atmósfera posteriormente por transpiración de la planta (volatilización), transformados o con la misma estructura. Lo controversial de esta técnica, es que el contaminante pasa del suelo al aire, continuando la polución del ambiente, pero el contaminante puede ser expulsado en una forma menos nociva (Bayón Sanz, 2015; National Risk Management Research Laboratory, 2000).

1.2.7. Girasol (*Helianthus annuus*)

1.2.8.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica del girasol, se presenta a continuación (Tenesaca Quito, 2015):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Helianthus*

Especie: *Helianthus annuus* L.

1.2.8.2. Características morfológicas

La raíz principal del girasol es de tipo pivotante, se forma un eje central y gran cantidad de raíces secundarias, las cuales alcanzan grandes dimensiones, puede llegar a crecer hasta 4 metros (Reategui Barboza & Reátegui Morales, 2018).

Las hojas son de forma acorazonada, alternas y pubescentes, la inflorescencia, es del tipo cabeza o capítulo, en algunas especies puede llegar a medir hasta 1 metro de diámetro, esta compuesto por flores amarillas que son individuales, las cuales estan comprendidas entre 500 y 1500, también pueden ser de color púrpura o rojo, de acuerdo a la especie (Coyac Rodríguez & Espinoza Banda, 2007).

1.2.8.3. Distribución geográfica

El girasol está ampliamente distribuido , su cultivo comenzó al norte de México y el oeste de Estados Unidos, fue empleado para la alimentación de los indígenas de dichas zonas. Posteriormente fue introducido a España, luego que los invasores llegaran a América, y se llevaran numerosas especies nativas, comenzando su cultivo por toda Europa. Actualmente se encuentra a lo largo de todo el continente Americano, de donde son originarias todas sus especies, igualmente en Europa y Asia, siendo Rusia uno de los países que desarrolló diversas variedades del girasol (Coyac Rodríguez & Espinoza Banda, 2007; Pineda, 2004).

1.2.8.4. Requerimientos edafoclimáticos

Para un desarrollo óptimo, necesita una temperatura media de 15°C, pero puede adaptarse a 25 °C- 28°C, como temperaturas máximas, y 13°C- 17°C, como temperaturas mínimas. Puede soportar heladas durante su primer ciclo de desarrollo, gradualmente se vuelve más sensible al frío. En cuanto a los requerimientos de humedad, el girasol va a tener una mayor demanda de agua durante sus primeras etapas de crecimiento, y también durante la formación y llenado de las semillas. Pueden someterse a estrés hídrico, lo cual es favorable durante las últimas etapas de desarrollo (Coyac Rodríguez & Espinoza Banda, 2007).

1.2.8.5. Girasol como fitorremediador de suelos contaminados

El girasol fue probado exitosamente en los alrededores de Chernobyl, luego de que ocurriera la más grande catástrofe nuclear, se emplearon semillas de

Helianthus sp. modificadas genéticamente, a los 12 días de haber sido plantadas, presentaron en sus raíces, 8000 veces más cantidad de Cesio que en el agua, y 2000 veces más cantidad de Estroncio. A partir de este episodio, el girasol comenzó a usarse para eliminar contaminantes de sitios con altas concentraciones de metales pesados, así como para experimentos piloto, se mostró efectiva ante los siguientes metales y elementos radiactivos: Cromo (Cr), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Plomo (Pb), Níquel (Ni) y Uranio (U) (Gómez, 2015). El girasol tiene gran capacidad de absorción de metales pesados, ya que cuenta con una gran biomasa radicular, principal lugar de acumulación de los contaminantes, aunque su tolerancia al Cromo, es baja en comparación a otros metales pesados (Pineda, 2004).

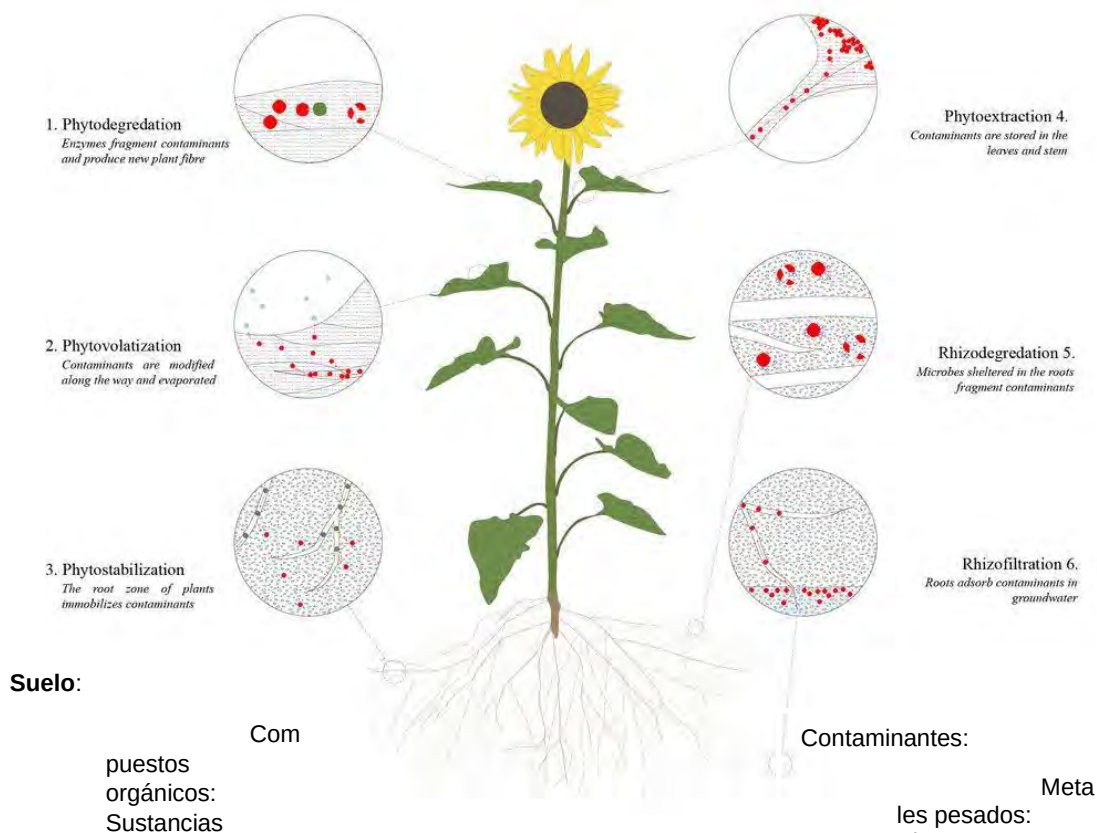


Figura 1. Fases de la fitorremediación (modificado de University of Sydney, 2018)

1.2.8. Micorrizas

El primer registro de las micorrizas, fue realizado Vittadini en 1831, quien publicó sus observaciones sobre trufas, pertenecientes a géneros *Elaphomyces* y *Tuber*, de la familia *Ascomycetes*, quienes se asociaban con las raíces de algunas plantas vasculares, si bien no se les conocía como micorrizas, la idea iba tomando forma. Con el paso de los años, Hartig, Tulasne y otros estudiosos de la época, fueron interesándose en el tema, de esta manera, se comenzaron a realizar más citaciones, teniendo mayor detalle sobre la función que realizaban y el aporte a la planta (Andrade-Torres, 2010).

Las micorrizas son una asociación, en la cual el hongo puede envolver las raíces de las plantas vasculares, ya sea de manera superficial, o ingresando a través del córtex, proporcionándole mayor área de exploración subterránea de nutrientes y agua, especialmente en lugares con características edáficas extremas, y a cambio de esto, la planta le proporciona al hongo los carbohidratos y un microhábitat para que complete su ciclo de vida. Las micorrizas pueden interconectarse subterráneamente con otras plantas de la misma especie, o distintas. Se les puede considerar como una herramienta de manejo sostenible de suelos, pues permiten una mayor productividad de los cultivos, mantenimiento de agrosistemas y recuperación de suelos degradados. Es una asociación mutualista, similar al de las fabáceas con bacterias del género *Rhizobium*, en la que tanto el hongo como la planta se ven beneficiadas, su aparición se dio hace unos 400 millones de años aproximadamente, volviéndose indispensable para el desarrollo ecológico de las plantas en el planeta (Camargo Ricalde et al., 2012; L. P. Garzón, 2016; Siddiqui & Pichtel, 2008).

Las micorrizas ayudan a las plantas a adaptarse a ambientes inhóspitos, con carencias nutricionales, minerales y a elevadas concentraciones de contaminantes (Cornejo et al., 2017).

La mayor función de las micorrizas es la del transporte nutricional, por este mutualismo, los hongos presentan un nivel de ventaja sobre sus competidores, otros microorganismos con los mismos requerimientos (Joner & Leyval, 2009).

1.2.9.1. Tipos de micorrizas

- a. **Micorrizas Arbusculares:** los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son asociaciones mutualistas entre hongos de la familia *Glomeromycota* y las raíces de plantas vasculares, están distribuidas prácticamente en todo el mundo, en todo tipo de ecosistemas, con excepción de la Antártida (Pérez et al., 2011). Son la asociación más común y más extendida, representa más del 80% del total de asociaciones micorríticas, son mutualistas obligatorias (Siddiqui & Pichtel, 2008).
- b. **Ectomicorrizas:** igualmente tienen una amplia distribución, pero sólo tienen asociación con el 3% de plantas vasculares, son miembros de las familias *Ascomycota* y *Basidiomycota*, las hifas de estos hongos no ingresan a las células de la epidermis de la raíz, no solo participan durante la absorción de nutrientes, también protegen a las plantas de agentes patógenos y de altos niveles de concentración de metales pesados en el suelo. Se presenta mayormente en especies arbóreas de bosques templados, en regiones alpinas y boreales, también en bosques tropicales y subtropicales (Garibay-Orijel et al., 2013; Siddiqui & Pichtel, 2008).
- c. **Ectendomicorrizas:** poseen características tanto de endomicorrizas como de ectomicorrizas, posee una red de Hartig, la cual desarrolla una hifa intracelular en células de la epidermis y la corteza, se forman en las raíces de angiospermas y gimnospermas, especialmente en especies de los géneros *Pinus* y *Larix*, pertenecen a las familias *Basidiomycota*, *Ascomycota* o *Zygomycota*, realizan una penetración intracelular, además producen hifas en células autótrofas (Camarena-Gutiérrez, 2012; Siddiqui & Pichtel, 2008). Adquieren vital importancia ecológica en casos de estrés abiótico, durante incendios, sequías prolongadas y contaminación atmosférica o edáfica, entre otros (M. H. García, 2009).

- d. **Arbutoide:** formadas por el género *Arbutus* y *Arctostaphylos*, pertenecientes a la familia Ericaceae, estas micorrizas poseen un manto, una red de Hartig y elaboran complejos hifales intracelulares confinados a la epidermis (Camarena-Gutiérrez, 2012).
- e. **Monotropoide:** característica de plantas no fotosintéticas, de la familia Monotropaceae, y hongos específicos de las familias Russulaceae o Boletaceae, el mecanismo de estos hongos es el de también asociarse con raíces de plantas fotosintéticamente activas, y tomar los fotosintatos de estas (Camarena-Gutiérrez, 2012; Siddiqui & Pichtel, 2008).
- f. **Ericoide:** Forma micorrizas con familias del orden Ericales, con géneros como *Erica*, *Calluna* y *Vaccinium* (M. H. García, 2009). Aquellas plantas que forman este tipo de micorriza desarrollan raíces laterales bastante finas que no tienen crecimiento secundario. Cada raíz está conformada de una o dos capas de células corticales, un cilindro vascular delgado, y también una capa de epidermis. La asociación además incluye la colonización de las células de la epidermis por la hifa, seguida de la formación de un complejo de hifas ramificadas (Camarena-Gutiérrez, 2012). No desarrollan red de Hartig, ni realizan una penetración intracelular en las raíces (Camarena-Gutiérrez, 2012; Siddiqui & Pichtel, 2008).
- g. **Micorriza orquideoide:** los hongos pertenecen a la clase Basidiomycetes, especialmente al género-forma *Rhizoctonia*, pueden metabolizar un diverso rango de fuentes de carbono, transformándose en protopectinasa y endopoligalacturonasa, con esto se posibilita su crecimiento en suelos con desechos orgánicos. La principal característica de estos hongos es la formación de pelotones en las raíces de las orquídeas. Son de vida limitada, durante la etapa final de su ciclo, las paredes del hongo poseen una masa irregular, y aquellas hifas que sobreviven, vuelven a colonizar en las raíces (Ordoñez Castillo, 2012).

1.2.9. Micorrizas y metales pesados

Las micorrizas son una asociación benéfica para la planta en el caso de la remediación de suelos que se encuentren contaminados con metales pesados,

pues los inmovilizan en la raíz, y reducen su paso a los órganos aéreos, de esta manera se reducirá su paso en la cadena trófica, también facilitan su absorción por parte de la planta. Hay factores que intervienen en la incorporación del metal pesado, como son la capacidad de las plantas para captarlo, propiedades del mismo hongo, y la capacidad de absorción del metal por parte del mismo suelo. Muchos metales pesados son fungitóxicos, por lo que si bien las micorrizas van a sobrevivir en suelos altamente contaminados, se va a reducir su propagación y extensión en el subsuelo (Carreón-Abud et al., 2013; Guerra-Sierra, 2008). Las micorrizas pueden incrementar el transporte de metales de la raíz a los órganos aéreos (fitoextracción) o inmovilizarlos en el área radicular (fitoestabilización), esto depende mucho de la interacción planta-metal-suelo, pues hay casos en los que a mismas concentraciones de metales pesados y condiciones edáficas, algunas plantas fitoextraen y otras fito estabilizan (Alvarado et al., 2011). Las estructuras encargadas de la simbiosis y tolerancia de los metales pesados en micorrizas son: hifas, vesículas y arbusculos, las vesículas son las encargadas de almacenar los metales pesados las cuales se ubican dentro o fuera de la raíz. La importancia de las hifas radica en la secreción de la glomalina. Las micorrizas actúan de diferente manera frente a los diferentes metales, con un mecanismo básico común: la expresión de diferentes genes que codifican para proteínas asociadas a variados mecanismos de transporte a nivel celular, que responden de manera diferente ante cada uno de los MP, también la fitoestabilización (Michel, 2011).

Aquellas plantas que son metalófitas, presentan modificaciones para desarrollar mecanismos de inactivación o inmovilización de metales pesados, las cuales son principalmente quelación, intercambio catiónico y encapsulamiento, estas modificaciones incluyen a las micorrizas arbusculares. La capacidad de las micorrizas para detoxificar un suelo, depende mucho de la concentración del metal pesado, y características propias del suelo (Aguirre et al., 2011).



Figura 2. Hongo micorrítico arbuscular (Aurea systems GmbH, 2012)

Las micorrizas no solo son utilizadas para la biorremediación de suelos, también para una recuperación y reciclaje de metales pesados que puedan encontrarse en el, la solubilización que el hongo le confiere a los metales pesados es beneficioso ecológicamente hablando, es uno de los rasgos más importantes de estos hongos, pues las formas solubles de los metales pueden ser aprovechadas por las células o incorporadas a ciclos biológicos del suelo (Gadd, 2001).

1.2.10. Glomalina

La glomalina viene a ser una glicoproteína insoluble secretada por aquellos hongos formadores de micorrizas arbusculares, pertenecientes al orden Glomerales del Phylum Glomeromycota, la cual ha sido encontrada en el suelo, ligado a metales pesados, registrada en todas las micorrizas arbusculares sometidas a pruebas hasta el momento. Para suelos con presencia de plomo se ha logrado extraer hasta 1.12 mg de Pb por gramo de glomalina y se ha observado que la concentración de Pb en la glomalina puede variar entre 0.8 y 15.5 % del total de Pb en el suelo, la producción de esta proteína aumenta ante niveles elevados de plomo en el suelo (Alvarado et al., 2011; Malekzadeh et al., 2016).

Se produce en las hifas de micorrizas, cuya función es la de contribuir de forma significativa en el establecimiento y crecimiento de las plantas. Aún se desconoce su estructura química, pero se sabe que está compuesta por un complejo de carbohidratos, aminoácidos, y hierro (< 5%), adicionalmente, de un elevado porcentaje de carbono (27,9 - 43,1%). Esta glicoproteína es una fuente de carbono para los suelos, y promueve la agregación de la fracción inorgánica del suelo (Branzini, 2005).

1.2.11. Factores de concentración

1.2.12.1. Factor de bioconcentración

La bioacumulación de un metal, es el incremento de concentración de un contaminante dentro de un organismo por un período de tiempo, en contraste con su presencia en el ambiente, las plantas por lo general acumulan los contaminantes en sus tejidos, lo que es usado como un indicador del nivel de contaminación del suelo (Mendieta & Taisigüe, 2014). El factor de bioconcentración es el cociente entre la proporción de la concentración del metal en la raíz y órganos aéreos sobre la concentración total en el suelo (García-Gallegos et al., 2011; Ruiz Huerta & Armienta Hernández, 2012).

1.2.12.2. Factor de translocación

La translocación de contaminantes en una planta, es una técnica de acumulación, las plantas trasloca el metal desde sus raíces a diversas partes de su estructura, generalmente a la biomasa aérea, cuando la planta es hiperacumuladora, el nivel de contaminante en esta es superior al del suelo (Mendieta & Taisigüe, 2014). El factor de translocación para metales en las plantas es calculado como la concentración en la parte aérea dividida entre la concentración en la raíz (Ruiz Huerta & Armienta Hernández, 2012; Torres, 2018).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas, ubicado en la parte posterior del Observatorio Meteorológico de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, en la ciudad y provincia del Cusco. El experimento se desarrolló usando 45 envases, distribuidos de acuerdo al diseño experimental, los cuales contenían a las plantas de *Helianthus annuus*.

2.2. MATERIALES

2.2.1. Material biológico

- Semillas de *Helianthus annuus*
- Plantones de *Helianthus annuus* de 30 días de edad
- Micorriza MYCOSYM TRI-TON (*Glomus intraradices*)

2.2.2. Material de campo

- Malla Raschell
- Fitotoldo
- Suelo de cultivo
- Tierra negra
- Termómetro ambiental
- Higrómetro
- Planchas germinadoras

2.2.3. Material de laboratorio

- Bolsas ziploc
- Balanza gramera
- Balanza de platillo
- Depósitos de 8 L. de capacidad (macetas)
- Pala de jardín
- Etiquetas
- Regla de 30 cm

- Implementos de bioseguridad (guantes de látex, protector buconasal, lentes de seguridad)
- Mandil
- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Mechero
- Agua destilada
- KOH
- Ácido Clorhídrico
- Azul de metileno
- Lactoglicerol

2.2.4. Contaminantes

- Acetato de Plomo trihidratado (400, 800, 1200 y 1600 ppm)

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. Análisis físico y químico del suelo de cultivo

Conforme al protocolo propuesto, el suelo estaba destinado a ser contaminado experimentalmente para obtener los resultados del proceso de biorremediación. Antes de contaminar los suelos con plomo se realizó un perfil del sustrato a utilizar, estas muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Suelos y Aguas de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

2.3.2. Germinación de semillas, colonización micorríticas en raíces y contaminación de suelos.

Procedimiento de Inoculación de *Glomus intraradices* en raíces de *Helianthus annuus*

Desinfección de semillas de *Helianthus annuus* con Hipoclorito de sodio al 4.95% disuelto en 1 litro de agua.

Inoculación de las micorrizas de la especie *Glomus intraradices* en las raíces de *Helianthus annuus*, procedente de MYCOSYM TRI TON y de semillas de girasol.

Colocar las semillas (120 semillas) en macetas de 3 kg de capacidad, junto con 0.5 g de MYCOSYM TRI TON, para que puedan proliferar las micorrizas en las raíces desde la germinación.

La germinación de las semillas se dio en 10 días, se obtuvieron 80 semillas germinadas, de estas se escogieron las que presentaban características biométricas similares.

Porcentaje de colonización micorrítica

A los 40 días de la germinación de las semillas, se seleccionaron 45 plántulas de similares características biométricas, para la observación de la colonización micorrítica en sus raíces.

Para poder realizar la observación de la colonización micorrítica, se procedió a usar la metodología de clareo y tinción de raíces de Phillips & Hayman (1970).

Las raíces de *Helianthus annuus* frescas se lavaron hasta eliminar los restos de tierra de las mismas, luego fueron sumergidas en una solución de Hidróxido de Potasio al 10%, y se calentaron a 90 °C durante 1 hora, se realizaron 3 repeticiones de este proceso.

Para eliminar la totalidad de pigmentos, se sumergieron las raíces en H₂O₂ al 10% durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, las raíces se lavaron con agua destilada, para eliminar todos los residuos de H₂O₂.

Posterior a este proceso, se agregó Ácido clorhídrico al 1% por 15 minutos más, para poder acidificar el medio. Después se retiró el ácido y se agregó el colorante, azul de metileno con lactoglicerol, se calentó durante 10 minutos, a llama directa de mechero.

Finalmente, se realizaron los montajes de las raicillas, cada una de 1cm de longitud en portaobjetos, para la observación en microscopio.

Se realizaron 3 réplicas por cada planta, con 5 fragmentos de raíz cada una.

Para obtener el porcentaje de colonización, se empleó la siguiente fórmula:

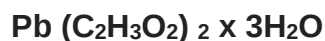
$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\# \text{ de segmentos colonizados}}{\# \text{ de segmentos totales}} \times 100$$

Preparación de suelos y contaminación de los suelos de cultivo con el Acetato de Plomo Trihidratado

El suelo de cultivo fue previamente tamizado para poder airearlo y eliminar las partículas de mayor tamaño, se dejó secando al aire libre durante 30 días, para que los microorganismos presentes en este sean eliminados.

Transcurridos los 30 días se procedió a pesar 5 kg de suelo en cada depósito (balde de 8L de capacidad).

Para realizar la etapa de contaminación de los suelos, ya en el Laboratorio de suelos de la Facultad de Ciencias Biológicas, se procedió a calcular las concentraciones de plomo en base al peso molecular del Acetato de plomo trihidratado, el cual tiene la siguiente fórmula:



Una vez calculada la concentración de Acetato de plomo trihidratado, se pesaron las cantidades de contaminante para cada uno de los tratamientos, en una balanza gramera de 0,1 a 500 g de capacidad, como se observa en la tabla 1.

Concentración de Plomo	Gramos Pb/kg	Gramos Pb/ 5 Kg
400 ppm	0.73 g	3.66 g
800 ppm	1.46 g	7.32 g
1200 ppm	2.19 g	10.98 g
1600 ppm	2.92 g	14.64 g

Tabla 1. Cantidad de Acetato de Plomo Trihidratado por Kg de suelo de cultivo, y cantidad aplicada para 5 kg de tierra.

Después del pesado, se mezcló el suelo de cultivo con las diferentes concentraciones de Acetato de plomo trihidratado, las que fueron distribuidas de forma randomizada.

Transplante de plantas de *Helianthus annuus* al suelo de cultivo contaminado

Las plantas se trasplantaron a los envases con el suelo previamente contaminado, este procedimiento se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas

Dentro del invernadero, se dispusieron un total de 45 envases, distribuidos en 3 bloques de 15 cada uno, completamente randomizados.

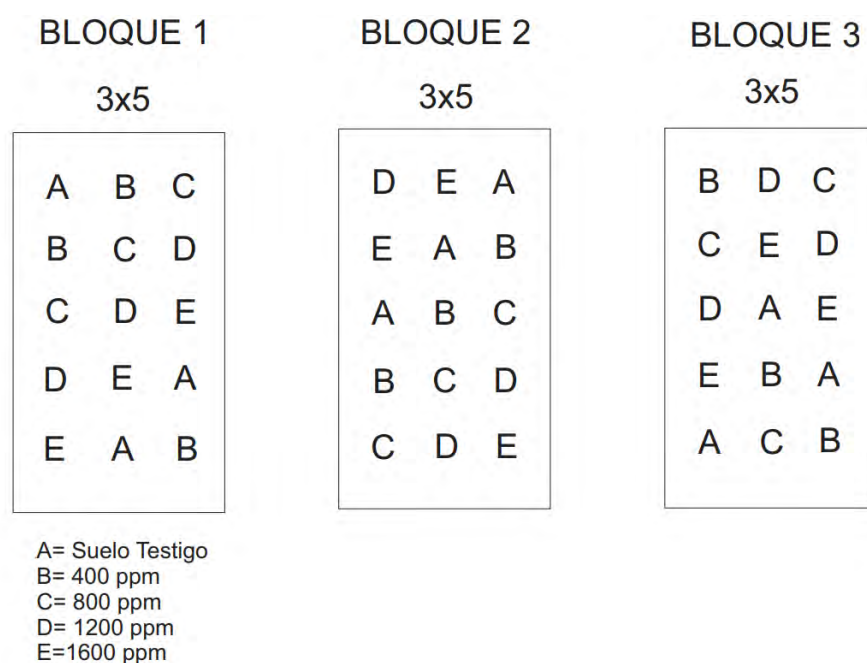


Figura 3. Distribución en bloques randomizados de plántulas de *Helianthus annuus* con el contaminante.
Bloque 1 analizado a los 40 días, Bloque 2 analizado a los 80 días y Bloque 3 analizado a los 120 días. En cada bloque se observan 3 unidades experimentales por tratamiento.

Seguimiento del crecimiento y desarrollo de las plantas de *Helianthus annuus*

El riego de las plantas de *Helianthus annuus* se realizó interdiario, durante los 4 meses que duró el experimento, aplicando 200 ml de agua libre de cloro (el agua se almacenó en un bidón de 25 litros de capacidad con un día de anticipación para que el cloro pudiera evaporarse).

El registro de los datos meteorológicos se realizó semanalmente mediante el uso de un formato en el cual se consignaron la temperatura máxima y mínima, la humedad relativa, para poder conocer las condiciones meteorológicas al interior del invernadero.

2.3.3. Parámetros biométricos

Los envases con las plantas de *Helianthus annuus* fueron trasladados del invernadero al laboratorio C-220 de la Facultad de Ciencias Biológicas, en donde se comenzó con la toma de datos.

Cada bloque de plantas de *Helianthus annuus* fue analizado a los 40, 80 y 120 días respectivamente de manera estandarizada, tomándose en cuenta la longitud de raíces y tallo, peso de raíces y tallo, además del número de folíolos de cada planta.

Primero se retiraron de cada envase las plantas junto con el suelo contaminado, se pesaron 500 g de suelo contaminado y se almacenaron en bolsas Ziploc, con el respectivo rótulo de identificación de la muestra. Se limpió el exceso de tierra de las raíces, y estas fueron medidas y posteriormente pesadas, para luego ser almacenadas en bolsas Ziploc con el respectivo rótulo de identificación de la muestra. Las hojas del tallo fueron contabilizadas y registradas en cuadros de datos, conjuntamente con la longitud y peso del tallo, para luego ser almacenadas en bolsas Ziploc con el respectivo rótulo de identificación de la muestra.

Todas las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Suelos y Aguas de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina, para la realización del Análisis de Espectrometría de Absorción Atómica.

2.3.4. Análisis de Espectrometría de Absorción Atómica

Los niveles de Plomo residual en el suelo, y los absorbidos por la zona radicular y foliar fueron determinados mediante un análisis de Espectrometría de Absorción Atómica, dicho análisis se realizó en el Laboratorio de Agua y Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Procedimiento:

De acuerdo a la metodología descrita por el Laboratorio de Aguas y Suelos, los análisis fueron realizados en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica UV-VIS.

1. Se procede a deshidratar las muestras (raíz, tallo y hojas), en una estufa a 70° por 48 horas.
2. Una vez secadas las muestras se realizó la molienda y el pesado.
3. Se obtuvo 0,5-1 gr de muestra, la cual fue sometida a digestión con ácido nítrico perclórico durante 1 hora.
4. Los extractos foliares y radicales fueron aforados a 25 ml de agua destilada, y sometidos en espectrofotómetro.
5. Para las muestras de suelos, la digestión fue realizada en Peróxido de hidrógeno al 30% y ácido sulfúrico concentrado.
6. Posterior a la digestión se prepararon los estándares de plomo para obtener la curva de calibración y finalmente se procedió a realizar la medición en el espectrofotómetro de absorción atómica UV-VIS.

a. Determinación del Factor de Bioconcentración

El Factor de bioconcentración (BCF) , permite medir la capacidad de captación de un metal pesado por la planta, con respecto a la concentración en el suelo (Medina Marcos & Montano Chávez, 2014).

Dicho factor se determinó en base a lo propuesto por Olivares & Peña (2009) mediante la siguiente fórmula:

$$BCF_{Raíz} = [metal]_{raíz} / [metal]_{suelo}$$

$$BCF_{Aérea} = [metal]_{aérea} / [metal]_{suelo}$$

Donde:

$BCF_{Raíz}$: Factor de Bioconcentración en raíz

$BCF_{Aérea}$: Factor de Bioconcentración en órganos aéreos

$[metal]_{raíz}$: Concentración de metal solo en la raíz en mg/kg

$[metal]_{aérea}$: Concentración de metal solo en órganos aéreos en mg/kg

$[metal]_{suelo}$: Concentración de metal en el suelo en mg/kg

b. Determinación del Factor de Translocación

El Factor de translocación (TF) es el cociente de la concentración de metales pesados en órganos aéreos y la zona radicular, para conocer el potencial biorremediador de la planta (Olivares & Peña, 2009).

Se determinó en base a la fórmula establecida por Zhang et al. (2002) y por Olivares & Peña (2009) , la cual es:

$$TF = [metal]_{aérea} / [metal]_{raíz}$$

Donde:

TF: Factor de Translocación

$[metal]_{aérea}$: Concentración de metal en los órganos aéreos en mg/kg.

$[metal]_{raíz}$: Concentración de metal en la raíz en mg/kg.

2.3.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados en el programa STATGRAPHICS CENTURION 18 mediante ANOVA Multifactorial, con un nivel de confianza de 95% ($p < 0.05$), ya que este programa estadístico es empleado para comparar varios grupos de variables cuantitativas.

a) Análisis de ANOVA multifactorial

En esta prueba se realiza un análisis de una cierta variable numérica continua, llamada variable respuesta y variables categóricas $F_1, \dots, F_n$, llamadas factores (Hocking, 2013). Esta prueba nos permite saber si existe una relación o no. Los factores utilizados son las variables: suelo, raíz y órganos aéreos. Para la prueba se utiliza un intervalo de confianza del 95%, bajo las siguientes hipótesis:

Ho: El tratamiento basado en el uso de la asociación micorrítica *Glomus intraradices* en suelo, raíz y órganos aéreos de *Helianthus annuus* no influye en descontaminación de suelos.

Ha: El tratamiento basado en el uso de la asociación micorrítica *Glomus intraradices* en suelo, raíz y órganos aéreos de *Helianthus annuus* influye en descontaminación de suelos.

En caso los resultados son significativos ($p > 0.05$), se realizará una prueba Post Hoc de Tukey y la prueba LSD de Fisher.

b) Prueba de Tukey

Es una prueba estadística utilizada en conjunto con ANOVA, esta prueba se usa para contrastar un número variado de comparaciones. Dado que el análisis de varianza cause un efecto significativo, la prueba de Tukey provee un nivel de significancia cuando los tamaños de las muestras son iguales, además se basa en la construcción de intervalos de confianza de las diferencias por pares. Si entre estos incluyen un 0, entonces no se rechaza la hipótesis nula (Hocking, 2013).

c) Diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher

La prueba LSD (Least significant difference) de Fisher es una prueba de comparaciones múltiples. Permite comparar las medias de los t niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Con este método existe un riesgo del 5% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Análisis físico y químico del suelo de cultivo

Se observan los análisis por el Laboratorio de Suelos y Aguas de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), se obtuvo los resultados de los análisis físicos y químicos resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultado de los análisis físicos y químicos del suelo de cultivo.

CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	ANÁLISIS MECÁNICO				pH	MATERIA ORGÁNICA %	CaCO ₃ %
	ARENA %	LIMO %	ARCILLA %	TEXTURA			
1.31	61.06	29.28	9.66	Franco arenoso	7.39	18.24	1.02

Nota: Laboratorio de Agua, Suelo, Medio ambiente y Fertirriego UNALM

Los componentes del suelo se presentaron de la siguiente manera: arena 61.06%, limo 29.28% y arcilla 9.66%, por lo cual la textura del suelo viene a ser Franco arenoso. Además posee un pH ligeramente alcalino (7.39) con una conductividad eléctrica de 1.31 dS/m, lo cual significa que es un suelo ligeramente salino.

4.1.2. Porcentaje de la colonización micorrítica en las raíces de girasol

Los resultados de la colonización micorrítica en las plantas de *Helianthus annuus*. En la tabla 3 se presentan los porcentajes de colonización micorrítica en cada una de las plántulas. La división se realizó por los 3 bloques aleatorios (Bloque 1, Bloque 2 y Bloque 3) y los tratamientos a los que fueron sometidos (A, B, C, D, E). Se se puede observar el porcentaje de colonización de las raíces de *Helianthus annuus*, por parte de las micorrizas *Glomus intraradices*, con

42.67% en promedio de todas las plantas, siendo la E1 del primer bloque la que obtuvo un menor porcentaje de colonización, el cual fue de 32%, y el D3 del primer bloque el que mayor colonización presentó, ascendiendo a 46%.

Tabla 3. Porcentaje de colonización de HMA en raíces de *Helianthus annuus*.

MUESTRA	% COLONIZACIÓN TOTAL		
	1 BLOQUE	2 BLOQUE	3 BLOQUE
A1	44%	41%	43%
A2	41%	42%	43%
A3	43%	44%	42%
B1	44%	43%	44%
B2	45%	43%	45%
B3	44%	44%	41%
C1	43%	45%	45%
C2	40%	44%	44%
C3	44%	45%	44%
D1	41%	43%	42%
D2	43%	45%	39%
D3	46%	43%	45%
E1	32%	43%	40%
E2	42%	42%	42%
E3	37%	45%	40%

4.1.3. Parámetros biométricos

El crecimiento de las plantas de *Helianthus annuus*, presentó variaciones de acuerdo a la concentración de plomo a la que fue expuesta cada plántula. Los resultados obtenidos nos permiten observar los datos obtenidos por el monitoreo por días, tratamiento y por órgano donde el plomo fue absorbido.

En la Figura 4, se muestra una comparativa de la longitud de los tallos (en cm), en los 4 tipos de tratamiento además del patrón, durante los 120 días que duró el experimento. A los 40 días, se observa que las plantas a las que se les aplicó 1200 y 1600 ppm, presentan un crecimiento menor en comparación con los demás tratamientos y con el patrón.

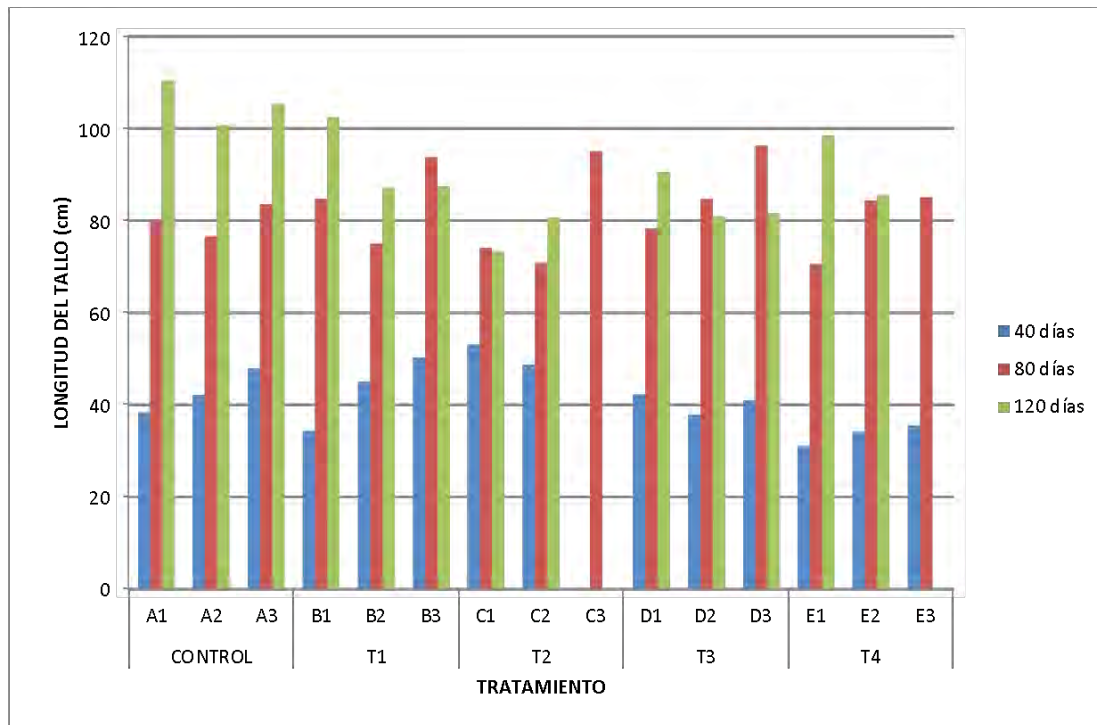


Figura 4. Valores promedio de la Longitud de tallo (cm) de *Helianthus annuus*, en base al control y a los 4 tratamientos empleados.

A los 80 días se ve que la variación entre plantas es bastante ligera, presentando valores similares, lo cual se puede interpretar como, que el tratamiento no provoca un daño mayor en el desarrollo de las plantas, ya que las longitudes son similares en comparación con el patrón. A los 120 días se muestra una variabilidad ligera en el crecimiento de las plantas, lo que significa que el tratamiento al que fueron sometidas, aparentemente no representó un daño mayor.

Con respecto al peso del tallo, en la figura 5 se observa la comparativa entre los pesos de los tallos de las plantas sometidas a los 4 tratamientos más el patrón.

A los 40 días, el peso en los tallos de todas las plantas, no presenta una variación significativa.

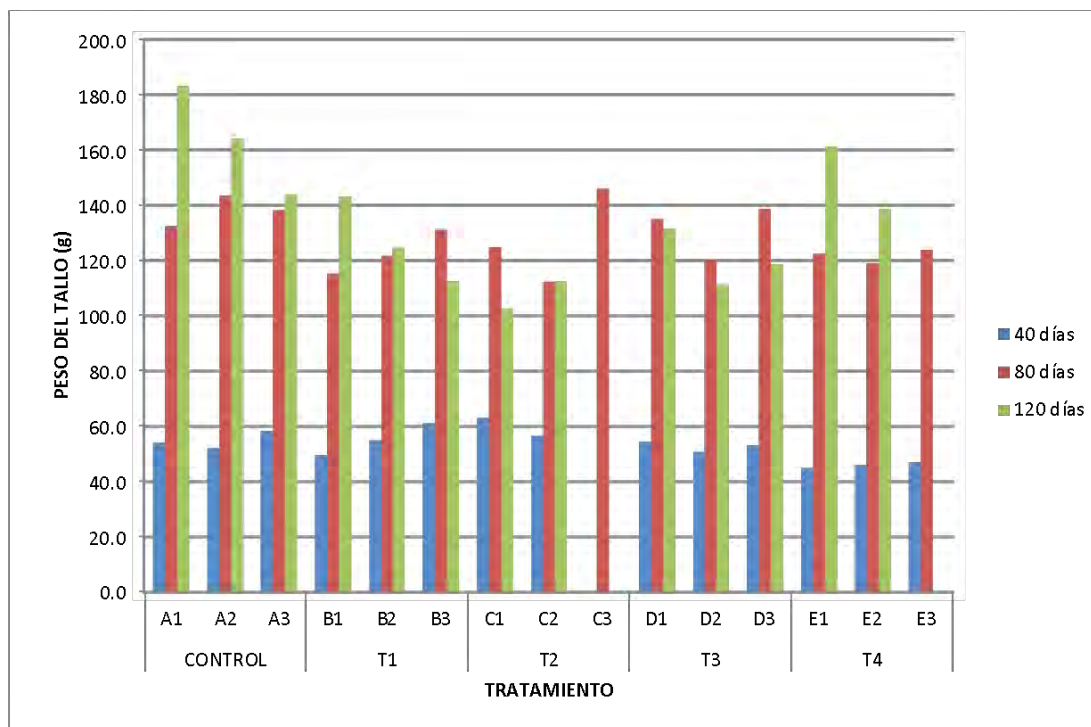


Figura 5. Valores promedio del Peso del tallo (g) de *Helianthus annuus*, en base al control y a los 4 tratamientos empleados.

A los 80 días, los valores de los pesos en las raíces de las plantas que fueron sometidas a los 4 tipos de tratamiento, fluctúan de manera mínima. A los 120 días, la diferencia entre pesos, es más notoria, todas las plantas sometidas a tratamiento, presentan valores mucho menores que los patrones, siendo más evidente en aquellas con 1200 y 1600 ppm de plomo.

En cuanto a la raíz, en la figura 6 se observa la longitud de las raíces (en cm) para los 4 tratamientos más el patrón, durante los 120 días de duración experimental. A los 40 días, se observa que el desarrollo de las raíces es similar en todas las plantas, a diferencia del tallo, las raíces presentaron una mayor variación en su longitud, en los 4 tipos de tratamiento a los 80 y 120 días de experimento, lo cual puede ser causado por el contacto directo que tenían con el plomo.

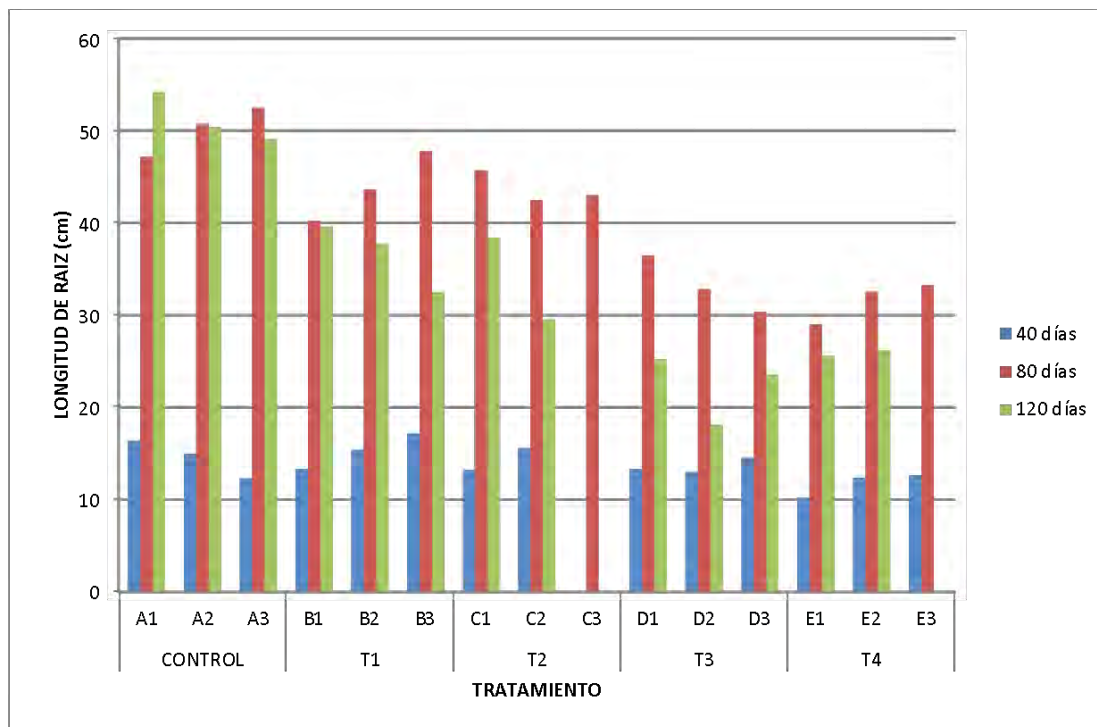


Figura 6. Valores promedio de la Longitud de la raíz (cm) de *Helianthus annuus*, en base al control y a los 4 tratamientos empleados.

Con respecto al promedio del peso (en gramos), como se observa en la figura 7, presentó una comparativa de los pesos de las raíces de todas las plantas sometidas a los 4 tratamientos más los patrones. A los 40 días, al igual que en las demás figuras, la variación es mínima, en comparación con los patrones. A los 80 días, la diferencia entre las plantas sometidas al tratamiento de 400 y 800 ppm y los patrones es pequeña, en cambio en las plantas que fueron sometidas al tratamiento de 1200 y 1600 la diferencia es un poco mayor. A los 120 días, al igual que en el caso del peso de los tallos, la diferencia de los patrones con las plantas sometidas a tratamiento es grande, siendo mucho mayor con aquellas que fueron sometidas a 1200 y 1600 ppm de plomo.

Finalmente, en la figura 8 se resume en un gráfico de barras sobre el número de hojas en cada planta sometida a tratamiento además de los patrones. A los 40 días, la diferencia entre cada una de ellas y con respecto a los patrones, era no muy alta, además de que no se presentaron alteraciones morfológicas.

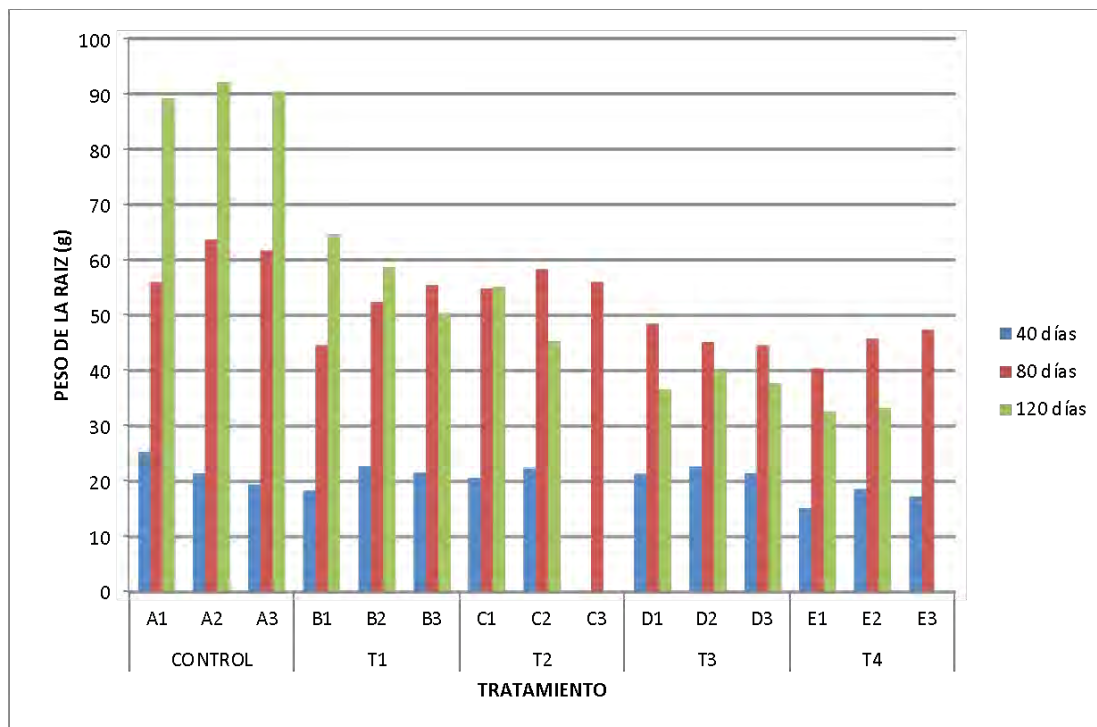


Figura 7. Valores promedio del peso de la raíz (cm) de *Helianthus annuus*, en base al control y a los 4 tratamientos empleados.

A los 120 días, se puede observar una mayor diferencia entre las plantas sometidas a tratamiento y los patrones, en estas últimas, la variación entre ellas no es significativa, en cambio, en las demás plantas se puede ver que en aquellas que fueron contaminadas con mayor cantidad de plomo, el número de hojas es menor que en los patrones, en las que fueron sometidas a 400 y 800 ppm, no existe mucha similitud en cantidad de hojas, el número es fluctuante. En esta etapa del experimento, comenzaron a evidenciarse cambios en la morfología, se vieron algunas plantas que tenían 2 o 3 flores, otras tenían las hojas con manchas blancas, otras simplemente se comenzaron a secar, sin existir un patrón para determinar su presencia en las plantas, ya que tanto las plantas con 400 ppm como las que tenían 1200 ppm presentaron las mismas alteraciones, esto se debe a la interferencia del plomo en el proceso de fotosíntesis, solo los patrones no presentaron ningún tipo de variación morfológica.

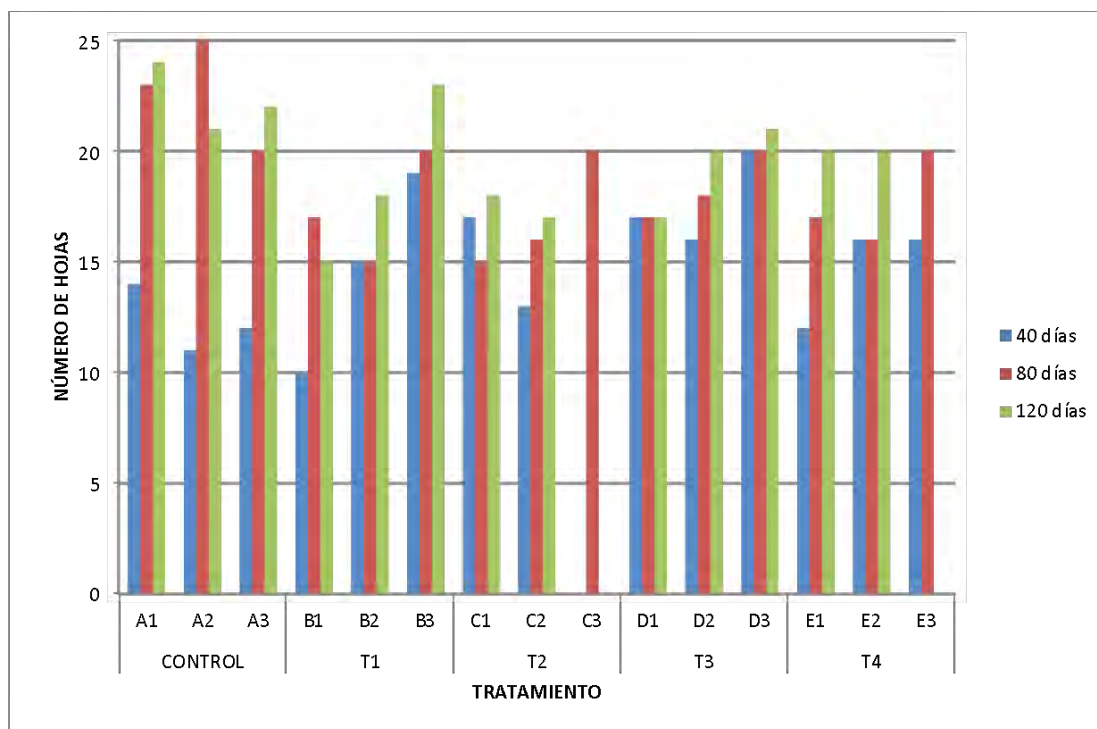


Figura 8. Valores promedio del número de hojas de *Helianthus annuus*, en base al control y a los 4 tratamientos empleados.

Una tabla extensa de los resultados obtenidos de las mediciones biométricas realizadas a las plantas de *Helianthus annuus* se presentan en la tabla 4 en el ANEXO B.

4.1.4. Concentración de plomo en los suelos de cultivo

Los resultados en base al Análisis de Espectrometría de Absorción Atómica realizados en el Laboratorio de Suelos y Agua de la UNALM en la tabla 5 en el ANEXO B.

En la figura 9 se presenta los resultados del primer bloque de plantas, que corresponde a los primeros 40 días de evaluación, se puede observar las variaciones de concentración de plomo en las plantas sometidas a los 4 diferentes tratamientos.

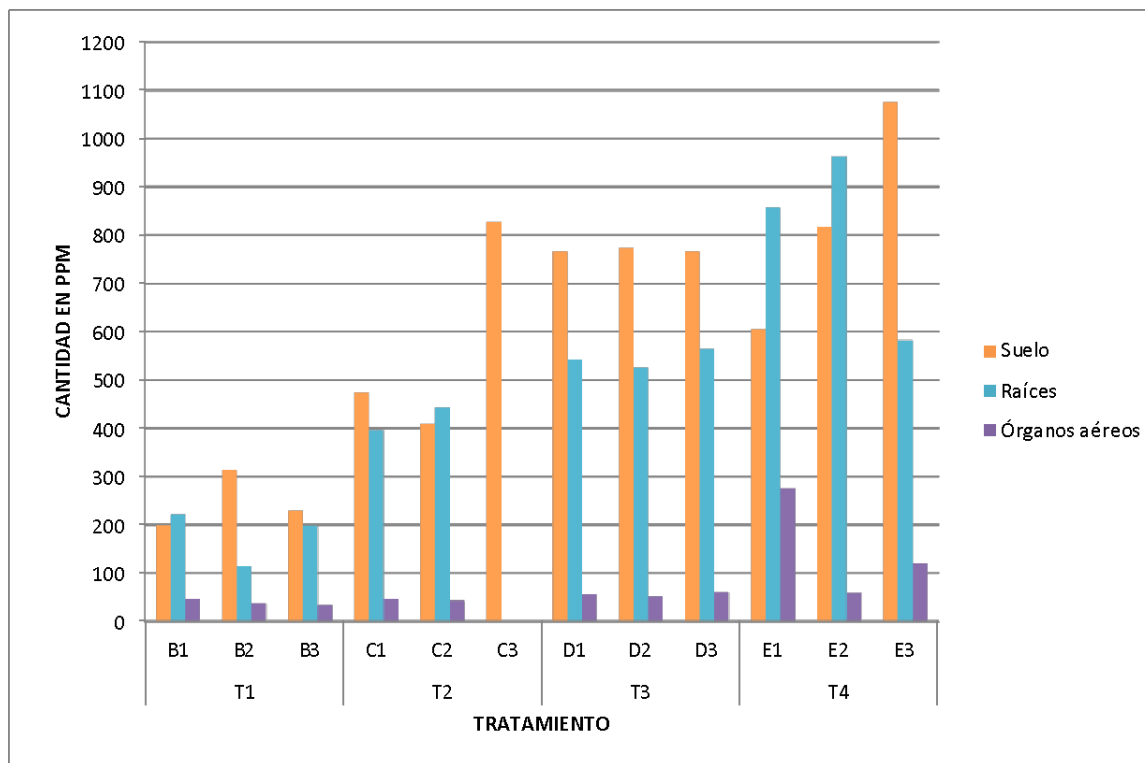


Figura 9. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 40 días de tratamiento.

En todos los tratamientos, se presentan niveles variables de plomo en las raíces, evidenciándose la fitorremediación parcial de los suelos, en los órganos aéreos, se observan cantidades menores de plomo, lo que significa que este no logró migrar en cantidades altas desde las raíces. La planta C3, no se desarrolló, por lo cual no se puede evaluar la fitorremediación.

Para los 80 días, se puede visibilizar una variación con respecto al primer periodo de tiempo, la absorción de plomo por parte radicular de la planta es menor en comparación a los resultados de los 40 días. Como se observa en la figura 10, los órganos aéreos presentan una cantidad mínima de plomo, indicando que no hubo una migración significativa del metal.

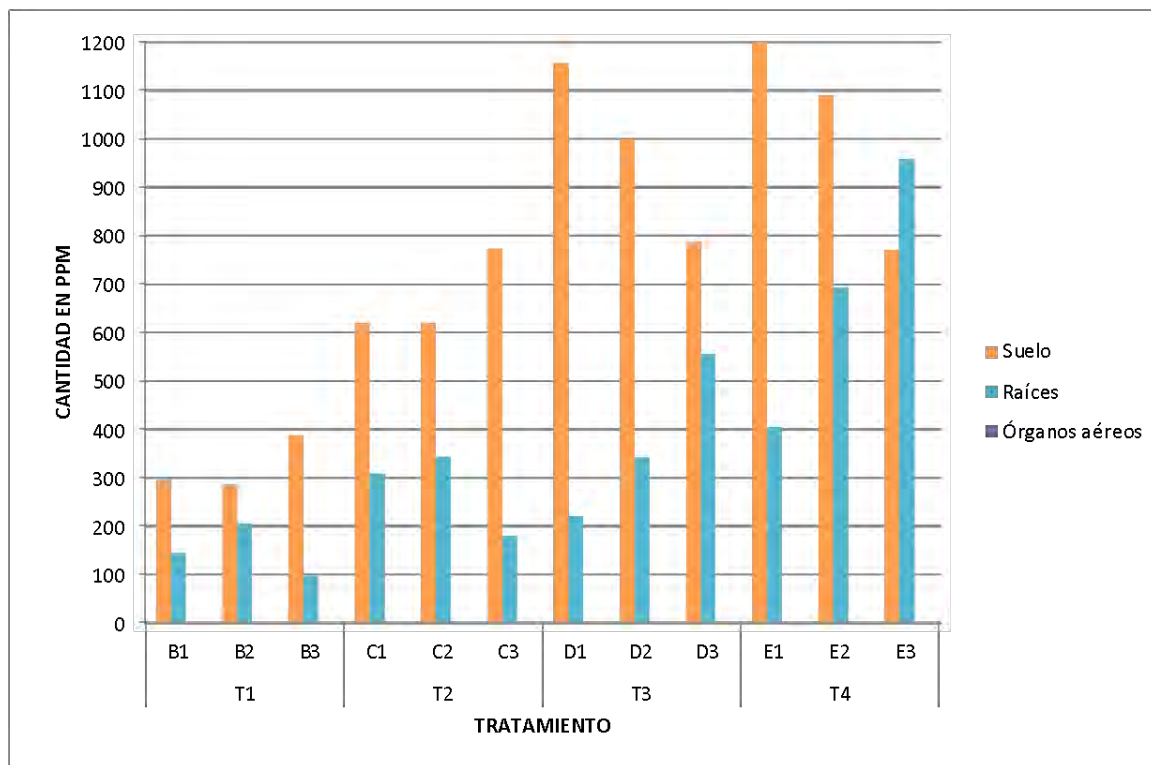


Figura 10. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 80 días de tratamiento.

A los 120 días se observa una menor absorción por parte de las raíces, en parte puede deberse al tiempo al que fueron expuestas las plantas al plomo. En la figura 11 se puede observar que, al igual que en los anteriores periodos de tiempo hubo una fitorremediación parcial de los suelos. Nuevamente se puede observar presencia de plomo en los órganos aéreos, en cantidades ligeramente mayores en comparación a los 40 días.

La menor cantidad de plomo registrada en suelos del tratamiento B a lo largo de todo el experimento fue de 200.27 ppm, mientras que la más alta fue de 386.59 ppm, para las raíces, la más baja fue de 96.31 ppm, y la más alta fue de 221.99 ppm, para los órganos aéreos, la concentración más baja fue de 0.001, y la más alta fue de 81.89.

Para el tratamiento C, se presenta de la siguiente manera, en suelo, la concentración más baja fue de 410.05 ppm, y la más alta fue de 891.67 ppm, para las raíces, la cantidad más baja fue de 179.65 ppm, y la más alta fue de

442.86 ppm. En el caso de los órganos aéreos, la concentración más baja fue de 0.001 y la más alta fue de 50.45.

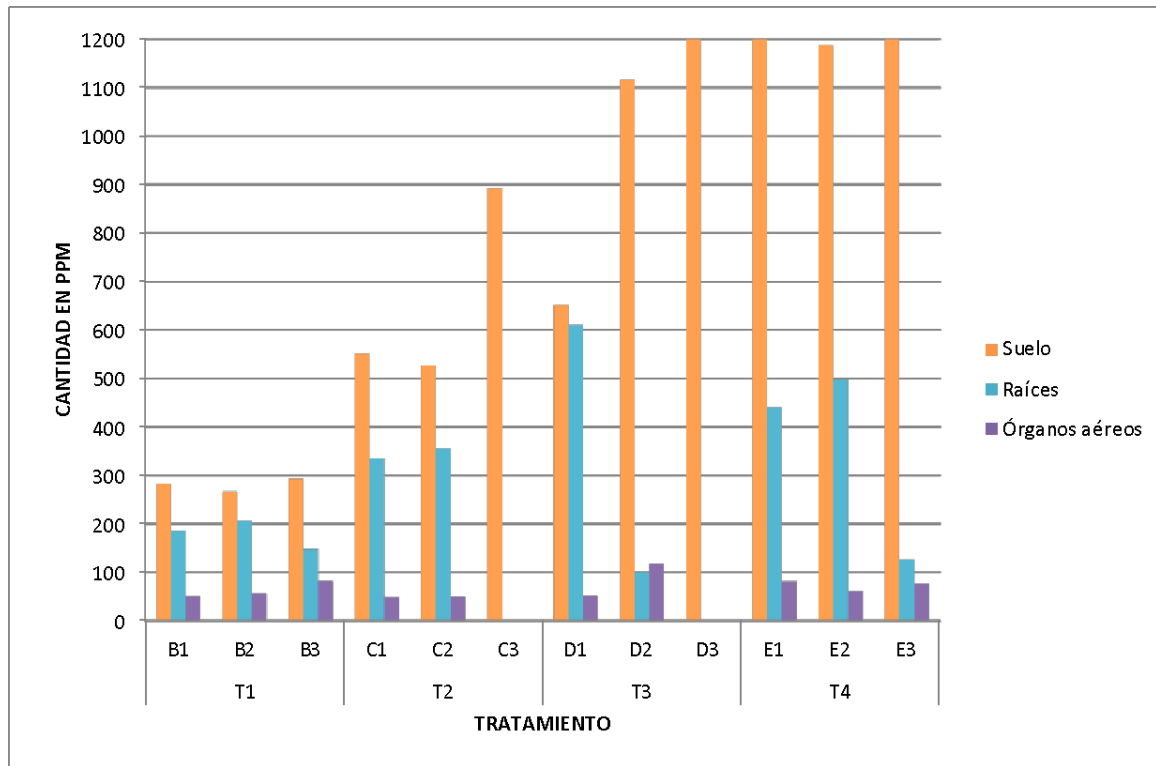


Figura 11. Comparativa de concentración de plomo en suelo, raíz y órganos aéreos, a los 120 días de tratamiento.

En el caso del tratamiento D, la concentración más baja de plomo en el suelo fue de 651.01 ppm y la más alta fue de 1297.60 ppm, para las raíces, la concentración más baja fue de 99.82 ppm y la más alta fue de 610.11 ppm, en los órganos aéreos, la concentración más baja fue de 0.001 y la más alta fue de 118.71 ppm.

Para el último tratamiento, el D, las concentraciones fueron en el siguiente orden, para el suelo, la menor fue de 605.47 ppm, y la mayor fue de 1475.09 ppm, en las raíces, la menor absorción de plomo fue de 126.27 ppm y la mayor fue de 963.60 ppm, en los órganos aéreos, la más baja fue de 0.001 y la más alta fue de 276.37 ppm.

a. Factor de Bioconcentración

A los 40 días de tratamiento, se observa que el T1, T2 y T4, presentaron por lo menos uno de sus $BCF_{raíz}$ mayor a 1, solo el T3 presentó todos sus valores menores a 1, para el $BCF_{aérea}$, en ningún caso se presentan valores mayores a 1, lo cual indicaría que el metal no se acumula en grandes cantidades en los órganos aéreos, pero sí en las raíces.

A los 80 días de tratamiento, sólo uno de los tratamientos presentó $BCF_{raíz}$ mayor a 1, el cual fué el E3 perteneciente al T4, todos los demás presentaron valores de $BCF_{raíz}$ menores a 1, a diferencia del anterior periodo de tiempo, en este caso el metal no se acumula en grandes cantidades en la raíces, para $BCF_{aérea}$, todos los tratamientos presentaron valores menores a >0.0001 , lo cual, corrobora que el metal no se acumula en grandes cantidades en los órganos aéreos.

A los 120 días de tratamiento, ninguna de las plantas presentó $BCF_{raíz}$ mayor a 1, lo que indica que las raíces no acumulan grandes cantidades de metal, para $BCF_{aérea}$, al igual que $BCF_{raíz}$ ninguna de las plantas presentó valores mayores a 1, lo cual indica que los órganos aéreos no acumulan grandes cantidades de metal.

Los resultados obtenidos por muestra y tratamiento se encuentran en la tabla 6 del ANEXO B.

b. Factor de Translocación

En los resultados obtenidos solo un tratamiento (D2 de T3) mostró TF mayor a 1, esto indica que casi el total de los tratamientos presentaron una baja translocación de plomo en *Helianthus annuus*. Los resultados obtenidos por muestra y tratamiento se encuentran en la tabla 7 del ANEXO B.

4.1.5. Análisis estadístico

En cuanto a los valores obtenidos por las pruebas de ANOVA multifactorial se obtuvieron los siguientes resultados por variable:

a. Suelo (Control)

Del análisis de varianza al 95% de confianza se acepta la hipótesis alterna ($p=0.0000$), es decir, el tratamiento basado en el uso de la asociación micorrítica *Glomus intraradices* en raíces de *Helianthus annuus* influye en descontaminación de suelos, los resultados se presentan en la tabla 8 del ANEXO B.

A través de un análisis de medias de mínimos cuadrados (tabla 9 del ANEXO B) y en la figura 12 se observa que a una concentración de plomo de 400 ppm se obtiene mejores resultados en la descontaminación, resultando en promedio 283.61 ppm (los valores fluctúan entre 152 ppm a 415 ppm).

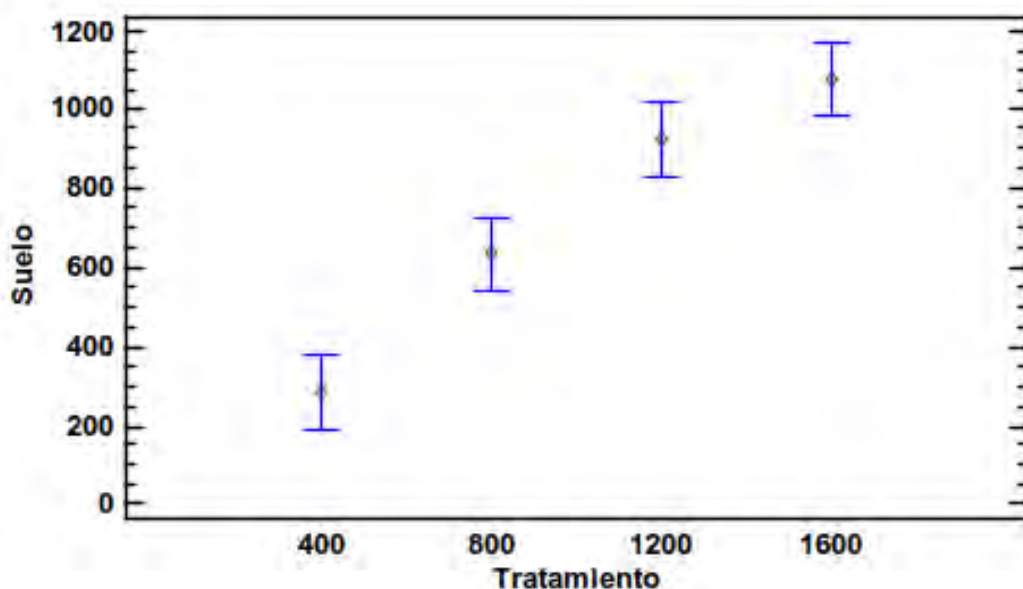


Figura 12. Medias obtenidos de la variable suelo al 95.0% Fisher LSD de Tukey.

A una concentración de 800 ppm, el promedio de plomo residual en el suelo es de 632 ppm, con resultados que fluctúan entre 501 ppm y 764 ppm.

A una concentración de 1200 ppm, el promedio de plomo residual en el suelo es de 922 ppm, con resultados que fluctúan entre 791 ppm y 1054 ppm.

Finalmente, para una concentración de 1600 ppm, el promedio de plomo residual en el suelo es de 1074 ppm, con resultados que fluctúan entre 942 ppm y 1205 ppm.

En cuanto a las interacciones detectadas, se identificaron 3 grupos homogéneos, según la alineación de las X's en columnas en la tabla 11 del ANEXO B, se puede apreciar que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la figura 13 se puede observar que el tratamiento a 400 ppm por 40 días fue el más efectivo, pues se observa que en ese periodo de tiempo el nivel de plomo residual en el suelo fue menor en comparación con los periodos de 80 y 120 días. En el tratamiento de 800 ppm, de igual manera se observa que a los 40 días, el nivel de plomo en el suelo es menor en comparación con los periodos de 80 y 120 días.

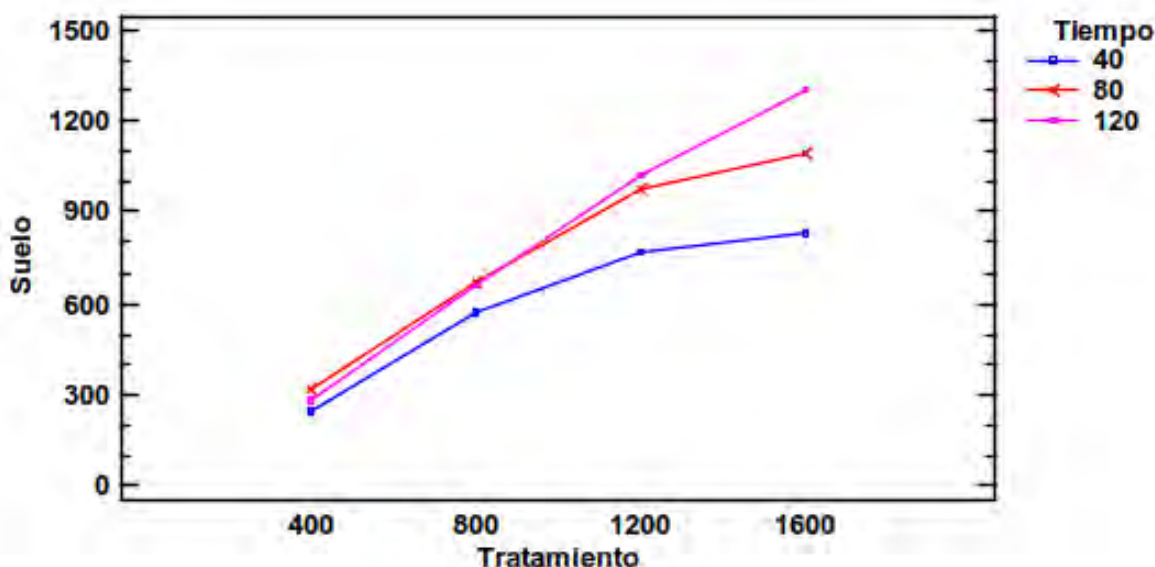


Figura 13. Interacciones Suelo-Tiempo.

Para el tratamiento de 1200 ppm también se observa que los niveles de plomo son menores en comparación con los periodos de 80 y 120 días. Finalmente, el tratamiento con 1600 ppm, al igual que en los anteriores casos, se observa que, a los 40 días, los niveles de plomo residual en el suelo son significativamente menores en comparación con los periodos de 80 y 120

días, por lo que el tiempo óptimo para la cosecha de *Helianthus annuus* sería a los 40 días.

b. Raíz

Del análisis de varianza al 95% de confianza se acepta la hipótesis alterna ($p = 0.0002$), es decir, el tratamiento basado en el uso de la asociación micorrítica *Glomus intraradices* en raíces de *Helianthus annuus* influye en descontaminación de suelos, los resultados se presentan en la tabla 12 y del ANEXO B y se observan en la figura 14.

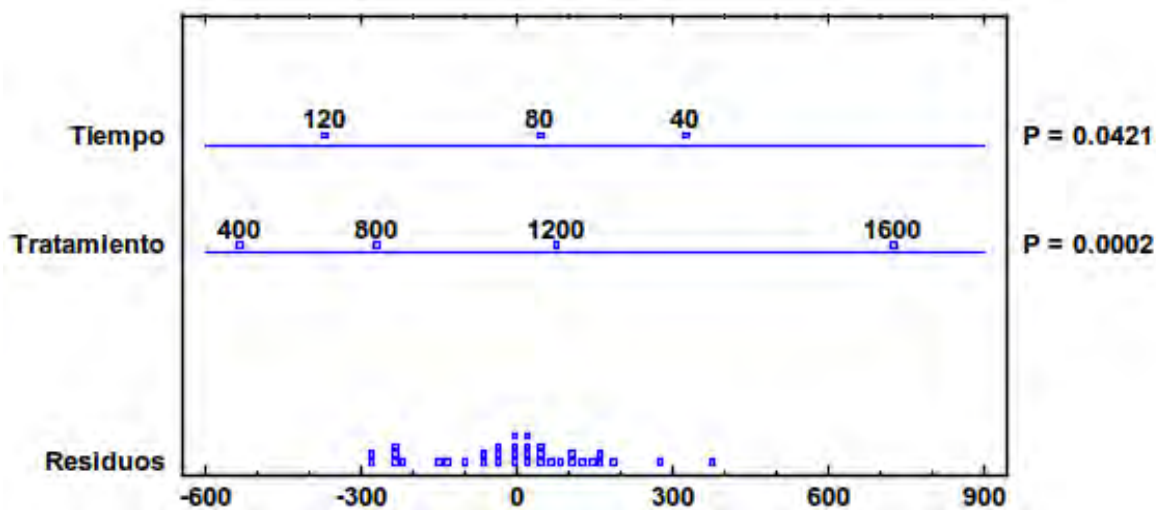


Figura 14. ANOVA para Raíz.

A través del análisis de medias de mínimos cuadrados (tabla 13 del ANEXO B) y en la figura 15 se observa que a una concentración de plomo de 400 ppm presentó un mayor nivel de absorción de plomo por parte de la raíz, con un promedio de 169.19, y con resultados que oscilan entre 42.70 y 295.56, el tratamiento expuesto a 800 ppm también presenta un nivel aceptable de absorción de plomo con un promedio de 262.41 ppm con resultados que oscilan entre 135.99 ppm y 388.83 ppm. En el caso del tratamiento de 1200 ppm, el promedio de absorción de plomo es de 384.82 ppm y resultados oscilan entre 258.40 ppm y 511.23 ppm.

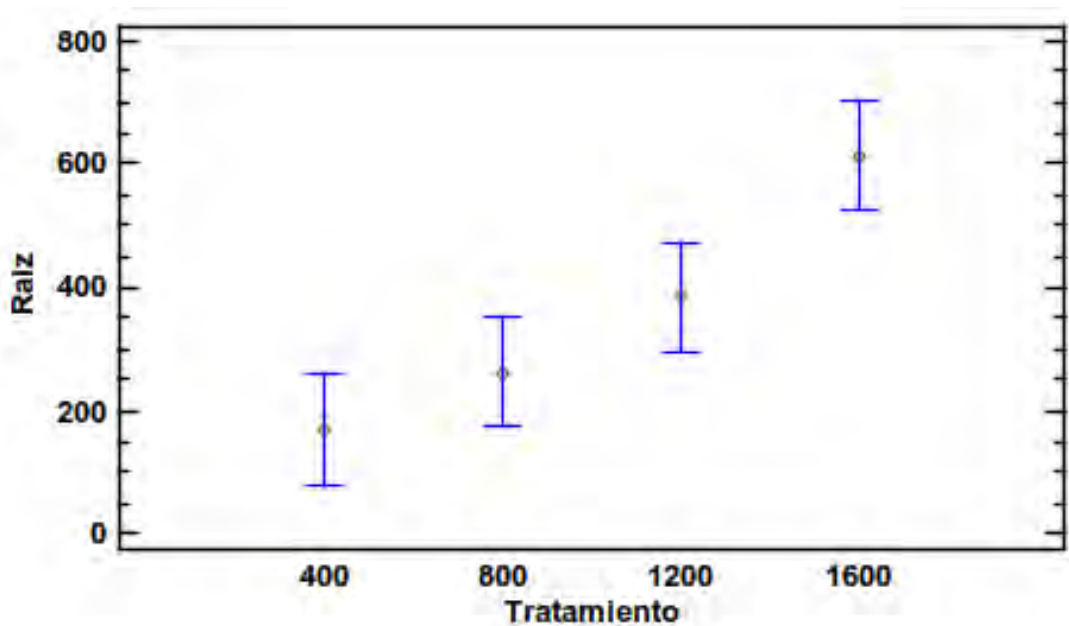


Figura 15. Medias obtenidos de la variable raíz al 95% Fisher LSD de Tukey.

Finalmente, para el tratamiento a 1600 ppm, también se observa un nivel de absorción relativamente alto con respecto a la cantidad inicial de plomo en el suelo, con un promedio de 613.52 ppm y resultados que oscilan entre 487.11 ppm y 739.94 ppm.

En cuanto a las interacciones detectadas, de acuerdo a la tabla 14 y tabla 15 del ANEXO B, se observa que hubo diferencias significativas en los tratamientos aplicados, la cantidad de plomo absorbido por parte de la raíz fue diferente entre los tratamientos de 400 ppm y los de 1200 y 1600 ppm, lo cual fue causado en gran parte por la cantidad de plomo al que fueron expuestas las raíces de las plantas con mayor concentración de plomo. En los tratamientos de 400 ppm y 800 ppm la diferencia no fue significativa, con niveles de absorción de plomo similares por parte de la raíz. la diferencia entre los tratamientos de 800 ppm y 1200 ppm no fue significativa con niveles similares de absorción de plomo entre ambos tratamientos, sin embargo, la diferencia entre los tratamientos de 800 ppm y 1600 ppm sí fue significativa, evidenciándose mayor absorción en el tratamiento expuesto a 1600 ppm.

Finalmente, en los tratamientos expuestos a 1200 ppm y 1600 ppm, también se observa una diferencia significativa, la absorción de plomo fue mayor en las raíces expuestas a 1600 ppm que en las expuestas a 1200 ppm.

Como se observa en la figura 16, los tratamientos expuestos a 400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm y 1600 ppm analizados en un periodo de 40 días, fueron las que presentaron mayor absorción a nivel radicular. El periodo de 80 días es el segundo con mayores niveles de plomo absorbido por la raíz de *Helianthus annuus*, en los 4 tratamientos aplicados, y el periodo de 120 días fue el que registró menores valores de absorción, como se pudo analizar en las características morfológicas de las plantas, aquellas que fueron evaluadas en el periodo final, comenzaron a presentar alteraciones en la morfología, lo que podría indicar una falla en los tejidos de las plantas.

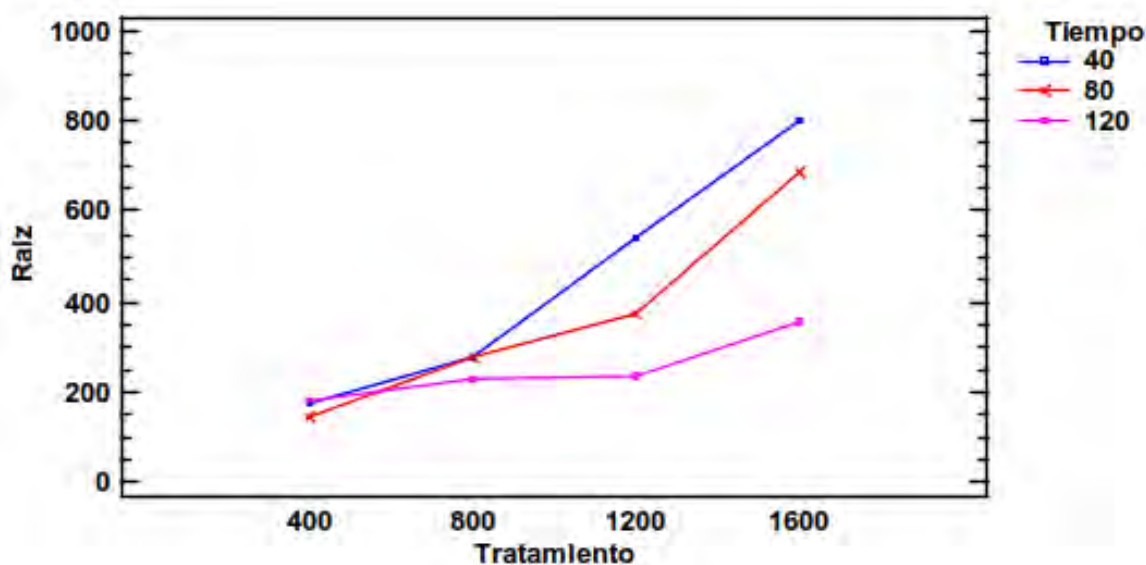


Figura 16. Interacciones Raíz.

c. Órganos aéreos

Del análisis de varianza al 95% de confianza se acepta la hipótesis alterna ($p = 0.0403$), es decir, el tratamiento basado en el uso de la asociación micorrítica *Glomus intraradices* en raíces de *Helianthus annuus* influye en descontaminación de suelos, los resultados se presentan en la tabla 16 y del ANEXO B y se observan en la figura 17.

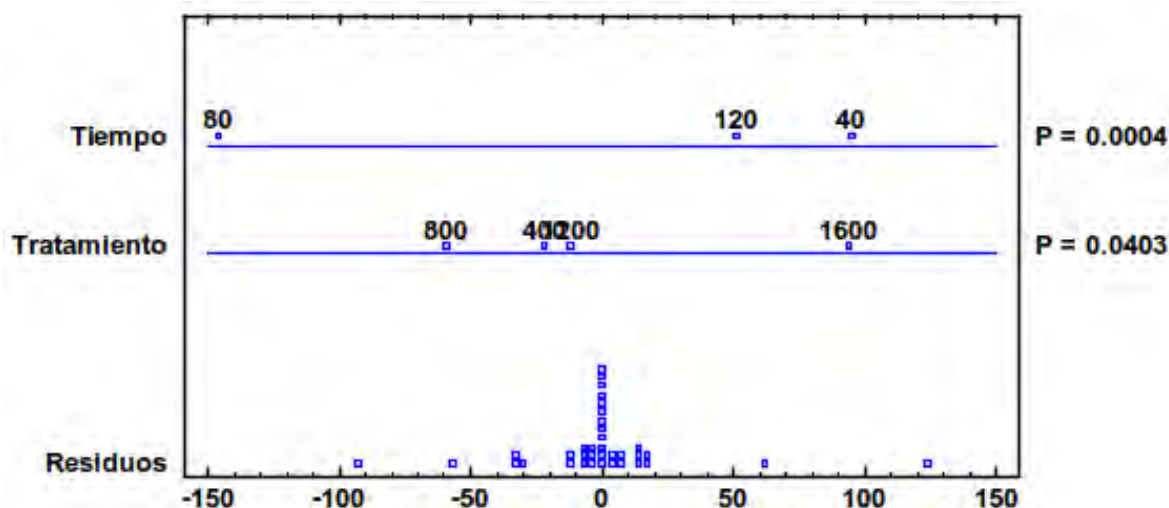


Figura 17. ANOVA para Órganos Aéreos.

A través del análisis de medias de mínimos cuadrados (tabla 17 del ANEXO B) y en la figura 18 se observa que los tratamiento de 400 ppm, 800 ppm y 1200 ppm y 1600 ppm presentan similitud en la cantidad de plomo registrado en los órganos aéreos de acuerdo a las medias de cada tratamiento, las cuales son 34.15 ppm, 21.08 ppm, 37.78 ppm y 75.15 ppm.

De acuerdo a los resultados esperados, las plantas expuestas a 800 ppm de plomo, fueron las que presentaron menor cantidad de plomo en órganos aéreos, oscilando entre 5.57438 ppm y 47.7439 ppm, y el tratamiento que presentó una mayor cantidad de plomo en órganos aéreos fue el de 1600 ppm, con una media de 75.15 ppm, con valores entre 48.49 ppm y 101.81 ppm.

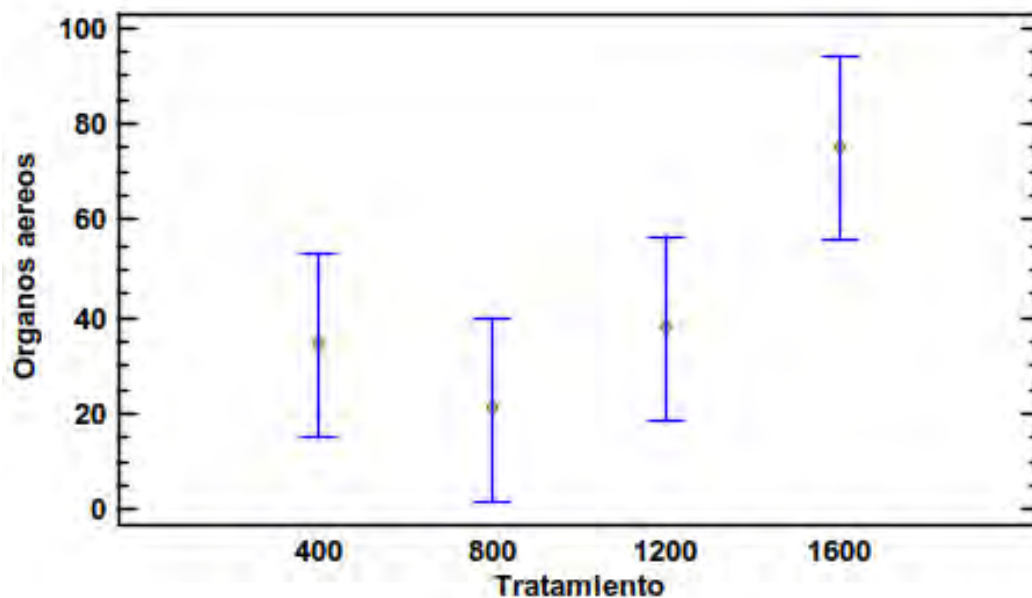


Figura 18. Medias obtenidos de la variable Órganos Aéreos al 95% Fisher LSD de Tukey.

De acuerdo a la tabla 18 y tabla 19, los tratamientos de 400 ppm, 800 ppm, y 1200 ppm presentaron niveles similares de absorción de plomo por parte de organos aereos, en el caso del tratamiento de 1600 ppm los niveles de plomo en organos aereos fueron mayores.

En la figura 19, se observa similitud entre los resultados de los tratamientos de 800 y 1200 ppm durante los periodos de 40 y 120 días, también se puede observar que, durante el periodo de 120 días, las cantidades de plomo absorbido por los órganos aéreos no presenta una variación significativa en los tratamientos de 400, 800 y 1200 ppm.

En base a los resultados esperados, el periodo de 80 días fue en el cual la migración de plomo de la raíz a los órganos aéreos fue prácticamente nula.

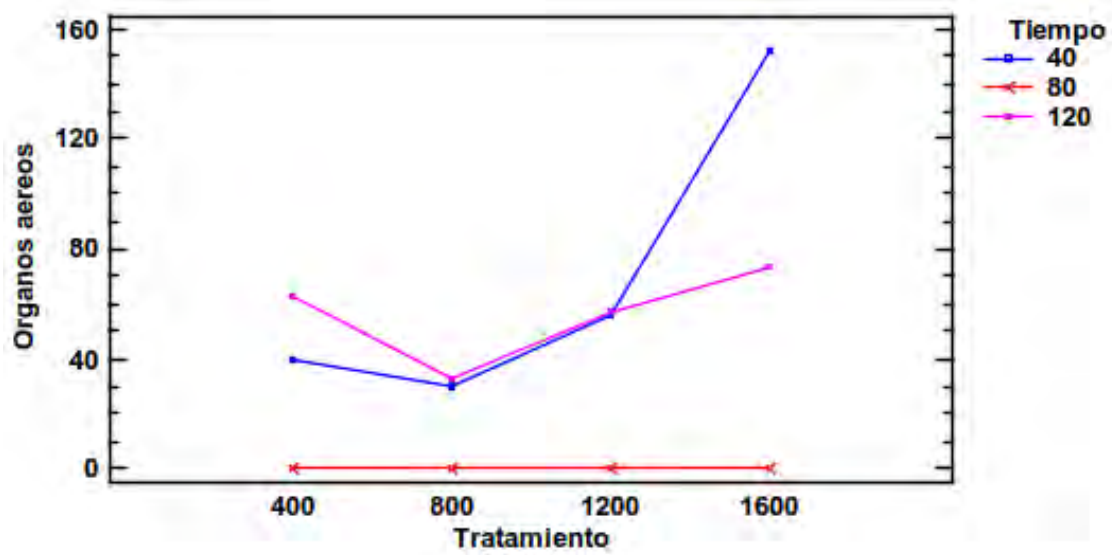


Figura 19. Interacciones Raíz.

5.- DISCUSIÓN

Por medio de los análisis físicos y químicos del suelo de cultivo, se obtuvo un suelo entre neutro y ligeramente alcalino (pH de 7.39) lo cual para Arévalo & Castellano (2009) permite una mejor solubilidad de los nutrientes y de metales pesados en el suelo. Además el porcentaje de materia orgánica era alto, con un 18.24%, esto permitió una buena aireación del suelo, mayor permeabilidad, mejor capacidad para almacenar y suministrar agua para el desarrollo de las raíces. Se resalta que la materia orgánica presente en los suelos promueve la formación de complejos organometálicos, característica que no fue favorable durante el desarrollo de este proyecto. La salinidad del suelo reportada en base a lo descrito por Porta Casanellas et al. (2019), este resultado implica que el suelo no presenta dificultades para absorber agua y otros nutrientes.

En cuanto a la determinación de la colonización micorrítica se observó que los porcentajes variaron entre 37% y 43%, esto puede deberse a que las micorrizas empleadas fueron un producto comercial. En base a lo descrito por Koomen et al. (1987), el nivel de fósforo presente en un suelo determina la colonización por parte de las micorrizas, cuando este elemento tiene una baja presencia, habrá un bajo nivel de fosfolípidos en las membranas, lo cual produce una mayor exudación y se estimula la colonización micorrítica. En este proyecto la composición del (Fósforo de 57.95 ppm), lo cual favoreció la colonización de las micorrizas.

En cuanto a los parámetros biométricos obtenidos, debido a los cambios observados en las plantas a medida que pasaba más tiempo. En base a lo observado en el experimento, el tiempo más prudente para la cosecha fue a los 40 días cuando comenzó la floración de las plantas, coincidiendo con lo reportado por Ríos et al. (2014) debido a que durante esta etapa la actividad fitorremediadora de las plantas es más efectiva.

La variación de pesos y longitudes de raíces y tallos en el periodo de 120 días comparado con los periodos de 40 y 80 días, se presume es causada por el prolongado tiempo de exposición de las plantas al metal contaminante, como se ve en el estudio realizado por xxxxxxxxx, que presenta resultados similares, esto se

debe a que las plantas reducen el desarrollo de biomasa aerea como una medida para combatir los daños sistemicos causados por el plomo, como la fotosintesis principalmente.

En cuanto a la concentración de plomo en los suelos de cultivo, en todas las plantas se ve que la concentración total (suelo, raíz y órganos aéreos) es mayor a la que se colocó al inicio del experimento. Esto se debe a la cantidad de materia orgánica que estaba presente en el suelo, hace que este funcione como una especie de “esponja”, por la formación de complejos organometálicos lo cual inmoviliza o reduce la fracción biodisponible para las plantas.

Con respecto al factor de bioconcentración obtenido reportamos que *Helianthus annuus* en asociación con *Glomus intraradices* no se presenta como una planta hiperacumuladora de plomo, pero si como fitorremediadora de suelos contaminados con plomo. En comparación con el factor de translocación (TF) donde casi el total de los tratamientos presentaron una baja translocación de plomo en *Helianthus annuus*, lo cual puede deberse a la acción de las micorrizas, pues la glomalina, proteína presente en los HMA, actúa como un estabilizante de metales pesados en las raíces. El bajo valor de TF, también puede deberse a la alta toxicidad del metal.

Se comprobó que la asociación micorrítica (*Glomus intraradices*) y el girasol (*Helianthus annuus*) fueron efectivas para la fitorremediación de suelos contaminados con plomo a través la prueba estadística de ANOVA multivariadas, con un valor $p < 0.05$, en todos los tratamientos y periodos estudiados.

En cuanto a la absorción de plomo en los órganos estudiados, se sometió los factores raíz y órganos aéreos a la misma prueba estadística obteniendo un valor significativo en ambos casos ($p = 0.0002$ y $p = 0.0403$ respectivamente), comprobando que metal fue retirado del suelo y fue almacenado en estos órganos en cada tratamiento y periodo estudiados. Se comprobó además que la raíz fue la que presentó una mejor capacidad de absorción de plomo, bajo 40 días de tratamiento.

Los resultados se asemejan a los obtenidos por otros investigadores en que la asociación micorrítica (Chibuike & Obiora, 2014) con girasol (*Helianthus annuus*)

es efectiva en la extracción del plomo de suelos contaminados (Vargas Muñoz, 2013) así como también en otros modelos vegetales, especialmente en los órganos aéreos (Ortiz-Cano et al., 2009; Paiva, 2015; Trejo-Calzada et al., 2013) y raíces (Leon Menacho, 2017; Martell, 2014; Rivera & Lázaro, 2017). Analizando a diferentes concentraciones se obtiene un valor estandarizado para efectivizar el potencial fitorremediador del girasol y de otras plantas (Chávez Rodríguez, 2014). Además se comprobó que bajo condiciones controladas de invernadero es posible fitorremediar suelos contaminados tanto experimentalmente (Beltrán-Villavicencio, 2001) como suelos o relaves de minería (Jara-Peña et al., 2014), obteniendo resultados similares a los estudios realizados con aguas residuales contaminadas con plomo (Lama Segura, 2018).

CONCLUSIONES

- Las plantas de girasol (*Helianthus annuus*), cuyas raíces fueron inoculadas con Hongos Micorríticos (*Glomus intraradices*) fueron efectivas para la fitorremediación de suelos contaminados con plomo, a mediano plazo. Las micorrizas de la especie *Glomus intraradices*, colonizaron en promedio menos del 50% de las raíces de *Helianthus annuus*.
- El valores del factor de Bioconcentración (BCF) obtenidos (en promedio menor a 1) indican que *Helianthus annuus* en combinación con *Glomus intraradices* es un fitoestabilizador de suelos contaminados y no se acumula en grandes cantidades en los órganos aéreos.
- El factor de Translocación (TF) obtenidos (en promedio mayor a 1) indican que *Helianthus annuus* en combinación con *Glomus intraradices*, lo cual significa que reduce la migración de metales pesados de las raíces a los órganos aéreos.

RECOMENDACIONES

- Para futuras investigaciones en el campo de la fitorremediación, se recomienda la siembra directa de las semillas de *Helianthus annuus* en el suelo contaminado, debido a posible pérdida durante el trasplante de algunas de las plántulas.
- Realizar estudios con otros tipos de hongos micorrícicos arbusculares en condiciones diferentes.
- Realizar ensayos de fitorremediación de suelos y también de aguas usando otros metales pesados.
- Implementar los laboratorios de la universidad con los insumos químicos necesarios para realizar análisis como el de espectrometría de absorción atómica en sus instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Abadin, H. (2005). *Draft toxicological profile for lead*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Acevedo, E., Carrasco, M., León, O., Martínez, E., Silva, P., Castillo, G., Ahumada, I., Borie, G., & González, S. (2005). Criterios de calidad de suelo agrícola. *Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile*.
- Aguirre, W., Fischer, G., & Miranda, D. (2011). Tolerancia a metales pesados a través del uso de micorrizas arbusculares en plantas cultivadas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(1), 141–154.
- Alvarado, C. J., Dasgupta-Schubert, N., Ambriz, E., Sánchez-Yañez, J. M., & Villegas, J. (2011). Hongos micorrízicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(4), 357–364.
- Andrade-Torres, A. (2010). Micorrizas: Antigua interacción entre plantas y hongos. *Ciencia*, 61, 84–90.
- Arela, E. V. (2017). *El impacto de la minería en la economía del departamento de Arequipa para el periodo del 2000-2015*.
- Arévalo, G., & Castellano, M. (2009). Manual de fertilizantes y enmiendas. *Programa Para La Agricultura Sostenible En Laderas de América Central. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras*. 57p.
- Astete, J., Gastañaga, M. del C., & Pérez, D. (2014). Niveles de metales pesados en el ambiente y su exposición en la población luego de cinco años de

- exploración minera en Las Bambas, Perú 2010. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31, 695–701.
- Banco Mundial. (2005). Riqueza y sostenibilidad: Dimensiones sociales y ambientales de la minería en el Perú. *Lima: Banco Mundial*.
- Bayón Sanz, S. (2015). *Aplicación de la fitorremediación a suelos contaminados por metales pesados*.
- BBVA Research. (2017). *Perú sector minero*. BBVA.
https://www.bbvaresearch.com/wp-content/uploads/2017/11/Sector-Minero-en-Peru_2017.pdf
- Beltrán-Villavicencio, M. (2001). *Fitoextracción en suelos contaminados con cadmio y zinc usando especies vegetales comestibles*.
- Bharti, R. P., Vastava, A., Soni, N., Tiwari, A., More, S., & Choudhary, J. (2014). Phytoremediation of heavy metal toxicity and role of soil in rhizobacteria. *Int. J. Sci. Res. Publ*, 4(1), 1–5.
- Branzini, A. (2005). *Remediación biótica y abiótica de un suelo contaminado con cobre, cinc y cromo. Monitoreo biológico*.
- Cabello, M. N. (2001). *Mycorrhizas and hydrocarbons*. 23, 456–471.
- Cala, V., & Kunimine, Y. (2003). Distribución de plomo en suelos contaminados en el entorno de una planta de reciclaje de baterías ácidas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 19(3), 109–115.
- Camarena-Gutiérrez, G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 18(3), 409–421.
- Camargo Ricalde, S. L., Arias, N. M. M., Mera, C. J. de la R., & Arias, S. A. M.

- (2012). *Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo*.
- Carreón-Abud, Y., Beltrán-Nambo, M., & Martínez Trujillo, M. (2013). Efecto protector de los hongos micorrízicos arbusculares en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) expuestas a Cr (VI). *Phyton (Buenos Aires)*, 82(1), 127–134.
- Chávez Rodríguez, L. (2014). *Fitoremediación con especies nativas en suelos contaminados por plomo*.
- Chibuike, G. U., & Obiora, S. C. (2014). Heavy metal polluted soils: Effect on plants and bioremediation methods. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014.
- Comisión Europea. (2002). *Comunicación de la Comisión al Consejo, el Parlamento Europeo, el Comité Económico y Social y el Comité de las Regiones—Hacia una estrategia temática para la protección del suelo*.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX%3A52002DC0179>
- Coopers, P. (2013). Industria Minera. Guía de Negocios en el Perú. *Publicaciones PWC*.
- Cornejo, P., Meier, S., García, S., Ferrol, N., Durán, P., Borie, F., & Seguel, A. (2017). Contribution of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi to the bioremediation of a copper contaminated soil using *Oenothera picensis*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(1), 14–21.
- Corredor, B. B., Mesa, G. P., Gallo, S. A. C., & Pino, N. (2013). Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: Caso DDT. *Gestión y Ambiente*, 16(3), 119–135.

- Couselo, J. L., & Corredoira, E. (2007). Respuesta de plantas de álamo a elevadas concentraciones de plomo. *REVISTA-REAL ACADEMIA GALEGA DE CIENCIAS*, 26, 29.
- Coyac Rodríguez, J. L., & Espinoza Banda, A. (2007). *Caracterización multivariada de cruas de girasol cultivado X silvestre (Helianthus annus L.) con propositos ornamentales*. México UAAAN UL-Torreon, COAH.,.
- Emgrisa. (2016, February 22). *Desorción térmica*. Desorción térmica: descripción y características de la unidad de Emgrisa.
<https://www.emgrisa.es/publicaciones/desorcion-termica/>
- EPA, E. P. A. (1996a). *Guia Del Ciudadano La Extraccion Con Solventes (Citizen's Guide to Solvent Extraction) (Spanish)*. National Service Center for Environmental Publications (NSCEP).
- EPA, E. P. A. (1996b). *Guia Del Ciudadano: La Extraccion De Vapores Del Suelo Y La Aspersión De Aire (Citizen's Guide to Soil Vapor Extraction and Air Sparging) (Spanish)*. National Service Center for Environmental Publications (NSCEP).
- EPA, E. P. A. (2011). *Lead Compounds*. National Service Center for Environmental Publications (NSCEP).
- Gadd, G. M. (2001). *Fungi in bioremediation* (Issue 23). Cambridge University Press.
- García, C., Moreno, J., Hernández Fernández, M. T., & Polo, A. (2002). *Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo*.
- Garcia, D. (2006). Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de Zea mays L. expuestas a la toxicidad por plomo. *Recuperado de*

[Http://Www. Tdx. Cat/Bitstream/Handle/10803/3676/Dgv1de1. Pdf.](http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3676/Dgv1de1.pdf)

García, M. H. (2009). *Las micorrizas: Una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años*. 66(1), 133–144.

García-Gallegos, E., Hernández-Acosta, E., García-Nieto, E., & Acevedo-Sandoval, O. A. (2011). Contenido y traslocación de plomo en avena (*Avena sativa*, L.) y haba (*Vicia faba*, L.) de un suelo contaminado. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 17(1), 19–29.

Garibay-Orijel, R., Morales-Marañón, E., Domínguez-Gutiérrez, M., & Flores-García, A. (2013). Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(1), 153–169.

Garzón, J. M., Rodríguez-Miranda, J. P., & Hernández-Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309–318.

Garzón, L. P. (2016). Importancia de las Micorrizas Arbusculares (Ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. *Luna Azul*, 42, 217–234.

Glave, M. (2007). La minería peruana: Lo que sabemos y lo que aún nos falta por saber. 52053, 135–181.

Gómez, T. (2015). Análisis de producción de tioles de bajo peso molecular en respuesta a varias concentraciones de adsorción de Cr (VI) en *H annuus* como mecanismo de defensa para conocer la concentración máxima de tolerancia (tesis de pregrado). *Instituto Politécnico Nacional. Silao, México*.

González Rodríguez, D., Almendros García, P., & Álvarez Álvarez, J. M. (2009).

- Métodos de análisis de elementos en suelos: Disponibilidad y fraccionamiento. 105(3), 205–212.*
- González Rojas, E. H. (2011). *Concepto y estrategias de biorremediación.*
- González-Flores, E., Tornero- Campante, M. A., Sandoval-Castro, E., Pérez-Magaña, A., & Gordillo-Martínez, A. J. (2011). Biodisponibilidad y fraccionamiento de metales pesados en suelos agrícolas enmendados con biosólidos de origen municipal. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 27(4), 290–301.*
- Guerra-Sierra, B. E. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Revista Tecnología En Marcha, 21(1), 189–191.*
- Hadi, F., & Aziz, T. (2015). A mini review on lead (Pb) toxicity in plants. *Journal of Biology and Life Science, 6(2), 91–101.*
- Haro, V. (2007). *Legislación de suelos y su protección ambiental.*
- Heerden, E., Williams, P., Ojo, E., Kuloyo, K., & Posthumus, R. (2013). Bioremediation, Small solutions to big problems. *Natural and Agricultural Sciences.*
- Hocking, R. R. (2013). *Methods and applications of linear models: Regression and the analysis of variance.* John Wiley & Sons.
- Huertos, E. G., & Baena, A. R. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *MACLA, Revista de La Sociedad Española de Mineralogía (10), 48–60.*
- Izquierdo Rodas, J. J. (2017). *Contaminación de los suelos agrícolas provocados por el uso de los agroquímicos en la parroquia San Joaquín.*
- Jara-Peña, E., Gómez, J., Montoya, H., Chanco, M., Mariano, M., & Cano, N.

- (2014). Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados. *Revista Peruana de Biología*, 21(2), 145–154.
- Joner, E. J., & Leyval, C. (2009). Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: A new aspect of rhizosphere interactions. *Sustainable Agriculture*, 885–894.
- Kurrer, C., & Nicoleta, N. (2018). *La política de medio ambiente: Principios generales y marco básico*. Fichas temáticas sobre la Unión Europea | Parlamento Europeo.
<https://www.europarl.europa.eu/factsheets/es/sheet/71/la-politica-de-medio-ambiente-principios-generales-y-marco-basic>
- La Republica. (2017, May 15). Perú, Sector minería es el más sancionado en el sur por daños al medio ambiente. *Coalición Regional*.
<https://www.coalicionregional.net/peru-sector-mineria-es-el-mas-sancionado-en-el-sur-por-danos-al-medio-ambiente/#:~:text=Hudbay%20Per%C3%BA%20fue%20sancionada%20en,a%20las%2010%20000%20UIT>.
- Lama Segura, E. R. (2018). *Fitoextracción de plomo en suelos de tres parques por el girasol (Helianthus annuus) inoculado con el hongo micorrítico Glomus intraradices*.
- Lenoir, C., Tornari, G., & Campos, L. (2004). Contaminación y tratamiento de suelo. *Buenos Aires, Argentina*.
- Leon Menacho, V. A. (2017). *Capacidad fitorremediadora de especies altoandinas para suelos contaminados por metales pesados procedentes de la*

- compañía minera Lincuna SAC, en condiciones de invernadero, 2015-2016.*
- López, R. A. N., Vong, Y. M., Borges, R. O., & Olguín, E. J. (2004).
- Fitorremediación: Fundamentos y aplicaciones. *Revista Ciencia*, 69–83.
- López-Falcón, R. (2002). Degradación del suelo: Causas, procesos, evaluación e investigación. *Serie Suelos y Clima SC-75. Centro Interamericano de Desarrollo e Investigación Ambiental y Territorial (CIDIAT), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.*
- Malekzadeh, E., Majidi, J., Aliasgharzad, N., & Abdolalizadeh, J. (2016). The effect of lead on the glomalin content of hypha and root reactive with monoclonal antibody and Bradford in both in vitro and pot culture conditions. *Water and Soil*, 30(2), 605–617.
- Maroto, M., & Rogel, J. (2004). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. *Geocisa. División de Protección Ambiental, Guadalajara-México*, 4(5), 297–305.
- Marquez, J. E., Pourret, O., Faucon, M.-P., Weber, S., Hoàng, T. B. H., & Martinez, R. E. (2018). Effect of cadmium, copper and lead on the growth of rice in the coal mining region of Quang Ninh, Cam-Pha (Vietnam). *Sustainability*, 10(6), 1758.
- Martell, M. (2014). *Acumulación de metales pesados en Beta vulgaris L. y Lolium perenne L. en suelos de Cuernavaca.*
- Martí, L., Burba, J. N., & Cavagnaro, M. (2002). Metales pesados en fertilizantes fosfatados, nitrogenados y mixtos. *Rev Fac Cienc Agrar*, 34(2), 43–48.
- Martínez, V., Nuñez, R., Meas, Y., Avelar, F., & Rodríguez, F. (2005). Lavado de suelo contaminado con plomo y recuperación electroquímica del Pb.

AIDIS/DIRSA, 1–10.

Medina Marcos, K. D., & Montano Chávez, Y. N. (2014). *Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el Juncus arcticus Willd. Y Cortaderia rudiusscula Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza-Ancash 2013.*

Méndez, J. P., Ramírez, C. A. G., Gutiérrez, A. D. R., & García, F. P. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29–44.

Mendieta, C., & Taisigüe, L. (2014). Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas nativas de la zona minera de Chontales: Implicaciones para el potencial de fito-remediación. *Laboratorio de Biotecnología, UNAM-Managua*, 1–12.

Michel, E. B. (2011). *Micorrizas y su accion frente a los metales pesados.* Academia.
[http://www.academia.edu/3993576/Micorrizas_y_su_accion_frente_a_los_m
etales_pesados](http://www.academia.edu/3993576/Micorrizas_y_su_accion_frente_a_los_metales_pesados)

MINAM. (2011). *Compendio de la Legislación Ambiental Peruana.*

MINSA. (2005, July 14). *Plan Nacional de Participación Social y Compromiso Multisectorial para fortalecer la Gestión Ambiental y reducir la Morbi-Mortalidad relacionada a la Contaminación por Plomo y Otros Metales Pesados, para el período 2005-2014.*

[https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/252356-535-2005-
minsa](https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/252356-535-2005-minsa)

Mishra, R. K., Mohammad, N., & Roychoudhury, N. (2016). Soil pollution: Causes,

- effects and control. *Van Sangyan*, 3(1), 1–14.
- Mojiri, A., Aziz, H. A., Zahed, M. A., Aziz, S. Q., & Selamat, M. R. B. (2013). Phytoremediation of heavy metals from urban waste leachate by southern cattail (*Typha domingensis*). *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences*, 1(4), 63–70.
- Morales, P. C., & Logroño, F. N. (2016). Uso de plantas de pepinillo (*Cucumis sativus*) para fitorremediar suelos contaminados con cromo. *Química Central*, 5(1), 69–76.
- National Risk Management Research Laboratory. (2000). *Introduction to phytoremediation*. National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and
- Navarro, A., Pérez, J. M. C., & Cisteró, X. F. (1995). Contaminación de suelos y aguas subterráneas por vertidos industriales. *Acta Geológica Hispánica*, 49–62.
- Olivares, E., & Peña, E. (2009). Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia*, 34(9), 604–611.
- Ordoñez Castillo, N. F. (2012). Efecto de hongos endófitos de orquídeas del grupo *Rhizoctonia* y otros endófitos cultivables sobre el desarrollo de plantas de *Vanilla planifolia* Jacks. *Departamento de Ciencias Forestales*.
- Oriundo Guarda, C. F., & Robles Gomero, J. T. (2009). *Determinación de plomo en suelos debido a la contaminación por fábricas aledañas al Asentamiento Humano cultura y progreso del distrito de Ñaña-Chaclacayo*.

Ortiz Bernad, I., Sanz García, J., Dorado Valiño, M., & Villar Fernández, S. (2007).

Técnicas de recuperación de suelos contaminados.

Ortiz-Cano, H., Trejo-Calzada, R., Valdez-Cepeda, R., Arreola-Ávila, J., Flores-Hernández, A., & López-Ariza, B. (2009). Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y micorrizas. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 15(2), 161–168.

Paiva, G. (2015). *Fitorremediación de Suelos Contaminados con Plomo Utilizando Amaranthus Spinosus–Amaranthaceae en Cusco del 2012.*

Pérez, A., Rojas, J., & Montes, D. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 3(2), 366–385.

Pérez Casimiro, G., Iturbe Argüelles, R., & Flores Serrano, R. M. (2005). Cambio en las propiedades físicas de un suelo contaminado con hidrocarburos debido a la aplicación de una tecnología de remediación. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, Desarrollo y Práctica*, 1(1).

Phillips, J., & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-IN18.

Pineda, H. (2004). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus* L.) crecido en un suelo contaminado con

- residuos de mina. *Tecoman (COL): Colima Univ.*
- Porta Casanellas, J., Lopez-Acevedo Reguerin, M., & Poch Claret, R. M. (2019).
Edafología: Uso y protección de suelos. Ediciones Mundi-Prensa.
- Presidencia del Consejo Ministros. (2013). *Aprueban estándares de calidad ambiental (ECA) para suelo*.
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C., & Campos, A. (2006).
Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria
minera: Heavy metals pollution in soils damaged by mining industry.
Ecología Aplicada, 5(1–2), 149–155.
- Quesada, R. B. (2012). *Impacto de la minería en el Perú y alternativas al desarrollo*. Universidad de Cordoba. Agencia Andaluza de Cooperación Internacional para el desarrollo.
- Rajoo, K. S., Ismail, A., Karam, D. S., & Muharam, F. M. (2016). Phytoremediation studies on soils contaminated with heavy metals in Malaysia: A review article. *American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Sciences*, 16(8), 1504–1514.
- Reategui Barboza, L. J., & Reátegui Morales, C. P. (2018). *Capacidad de absorción del Helianthus annuus en suelos agrícolas contaminados con cadmio*.
- Ríos, H. B., Reyes, F. C. R. C., Arquíñigo, C. M., & Zumaeta, J. A. (2014).
Fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo.
Alma Máter Segunda Época, 1, 113–121.
- Rivera, F. D. M. P., & Lázaro, E. B. (2017). Aplicación de la fitorremediación en suelos contaminados por metales pesados utilizando *Helianthus annuus* L.

- en la Estación Experimental El Mantaro. *Prospectiva Universitaria*, 9(1), 31–45.
- Rodríguez, A., & Espinal, G. (2008). Niveles de plomo en sangre y factores de riesgo asociados en niños de 2 a 10 años en el barrio Villa Francisca, Santo Domingo, República Dominicana. *Ciencia y Sociedad*, 33(4), 595–609.
- Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2018). *Soil pollution: A hidden reality*. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO.
- Ruiz Huerta, E. A., & Armienta Hernández, M. A. (2012). Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(2), 103–117.
- Sardrood, B. P., Goltapeh, E. M., & Varma, A. (2012). An introduction to bioremediation. In *Fungi as bioremediators* (pp. 3–27). Springer.
- Segovia, M. (2014). Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de elementos traza en suelos contaminados y plantas. *Santiago de Chile: Universidad de Chile*.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 35–52.
- Shayler, H., McBride, M., & Harrison, E. (2009). *Sources and impacts of contaminants in soils*.
- Siddiqui, Z. A., & Pichtel, J. (2008). Mycorrhizae: An overview. *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*, 1–35.
- Silva Arroyave, S. M., & Correa Restrepo, F. J. (2009). Análisis de la contaminación del suelo: Revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre Económico*, 12(23), 13–34.

- Tamayo, J., Salvador, J., Vásquez, A., & Zurita, V. (2017). La industria de la minería en el Perú: 20 años de contribución al crecimiento y desarrollo económico del país. *La Minería En El Mundo. Osinergmin. Perú*, 102–103.
- Toro, M. A. T., & Quirama, J. F. R. (2012). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 37–48.
- Torres, A. (2018). Factor de bioconcentración y traslocación de especies altoandinas para suelos contaminados con metales pesados provenientes de la planta concentradora de Mesapata, en condiciones de invernadero, 2015-2016”(Tesis de pre grado) Universidad Nacional Santiago Antúnez De Mayolo Recuperado de <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2110>.
- Trejo-Calzada, R., Pedroza-Sandoval, A., Arreola-Ávila, J., Valdez-Cepeda, R., Hernández, M., Ruiz-Torres, J., Ortiz, H., O. Esquivel-Hernández, Landeros-Márquez, O., Hernández Herrera, J., & Galaviz-Lozano, A. D. (2013). Impacto ambiental y biomrremediación en áreas contaminadas con metales pesados. *Primer Congreso Internacional de Recursos Bióticos de Zonas Áridas, I*, 92–100.
- Uchiri, F. C., Najera, J. D. J., & Cáceres, S. A. (2019). Conflictos Sociales en la Minería Peruana: Un análisis teórico de su origen. *Semestre Económico*, 8(1), 7–39.
- Vargas Muñoz, G. (2013). *Influencia de las micorrizas arbusculares en la fitoextracción con girasol en suelos contaminados por Pb y Cd (Tesis de pregrado)*.

- Vázquez-Alarcón, A., Cajuste, L. J., Carrillo-González, R., Zamudio-González, B., Álvarez-Sánchez, E., & Castellanos-Ramos, J. Z. (2005). Límites permisibles de acumulación de cadmio, níquel y plomo en suelos del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Terra Latinoamericana*, 23(4), 447–455.
- Volke Sepulveda, T. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología.
- WHO, W. H. O. (2010). *Exposure to lead: A major public health concern*.
- Zhang, W., Cai, Y., Tu, C., & Ma, L. Q. (2002). Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Science of the Total Environment*, 300(1–3), 167–177.
- Zúñiga, F. B. (1999). *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados* (Vol. 1). Uady.

ANEXOS

ANEXO A: Galería de fotos



Figura 20. Micorrizas de la especie *Glomus intraradices* de la marca Mycosym Triton.



Figura 21. Llenado de los baldes de 5 L. de capacidad con suelo de cultivo.



Figura 22. Etiquetado de los baldes con las plántulas trasplantadas.



Figura 23. Distribución randomizada de las plántulas de girasol.



Figura 24. Finalizado el trasplante de las plántulas de girasol.



Figura 25. Proceso de secado de la tierra negra para su posterior contaminación.



Figura 26. Tamizado de la tierra negra.



Figura 27. Eliminación de piedras y otros elementos extraños de la tierra negra.



Figura 28. Limpieza de las raíces de los plantones de girasoles.



Figura 29. Preparación para pesado de 5 kg de tierra negra para cada maceta.



Figura 30. Pesado de los 5 kg de tierra negra para cada maceta.



Figura 31. Asistente de campo con los implementos de bioseguridad para la manipulación del Acetato de Plomo Trihidratado.



Figura 32. Cálculo del Acetato de Plomo Trihidratado de acuerdo a la concentración requerida para cada planta.



Figura 33. Pesado del Acetato de Plomo Trihidratado de acuerdo a la concentración requerida para cada planta.



Figura 34. Selección de las plántulas por características biométricas.



Figura 35. Plántulas que tenían similares características biométricas.



Figura 36. Mezclado de los 5 kg. de tierra negra con el Acetato de Plomo Trihidratado.



Figura 37. Monitoreo de los plántones de girasol durante los 40 días del experimento.



Figura 38. Monitoreo de los plántones de girasol durante los 40 días de duración del experimento.



Figura 39. Crecimiento de flores en los plántones de girasol en el experimento.



Figura 40. Monitoreo de los plántones de girasol durante los 80 días de duración del experimento.



Figura 41. Monitoreo de los plántones de girasol durante los 120 días de duración del experimento.



Figura 42. Monitoreo de crecimiento de flores de girasol.



Figura 43. Monitoreo de crecimiento de flores de girasol contaminadas con plomo.



Figura 44. Monitoreo de girasoles que sus flores no maduraran.



Figura 45. Alteraciones morfológicas en los folíolos de los plántones de acuerdo a la concentración del contaminante.



Figura 46. Alteraciones morfológicas en toda la plántula de acuerdo a la concentración del contaminante.



Figura 47. Alteraciones morfológicas en las hojas de los plántones de acuerdo a la concentración del contaminante.



Figura 48. Pesado de las muestras de raíces y zona aérea de los girasoles.



Figura 49. Muestras de tierra, raíces y zona aérea de los girasoles.



Figura 50. Observación del crecimiento de las raíces de los girasoles.



Figura 51. Medición de la longitud del tallo de los girasoles.



Figura 52. Modificaciones morfológicas en el tallo de los girasoles.



Figura 53. Modificaciones morfológicas en las inflorescencias de los girasoles.



Figura 54. Modificaciones morfológicas en las plántulas de los girasoles.



Figura 55. Modificaciones morfológicas en los sépalos de los girasoles.



Figura 56. Medición de la longitud de las raíces de los girasoles.



Figura 57. Pesado de las muestras de hojas y tallos de los girasoles.

ANEXO B: Tablas de resultados

Tabla 4. Resultados de los parámetros biométricos

PARÁMETRO DE CRECIMIENTO	TIEMPO	TRATAMIENTO														
		CONTROL			T1			T2			T3			T4		
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3
Longitud de Tallo (cm)	40 días	38.5	42.2	48.0	34.4	45.1	50.3	53.2	48.7	0*	42.3	37.9	41.0	31.0	34.2	35.6
	80 días	80.1	76.5	83.6	84.8	75.0	93.7	74.1	70.8	95.0	78.3	84.7	96.2	70.6	84.3	85.1
	120 días	110.4	100.7	105.2	102.5	87.1	87.4	73.3	80.6	0*	90.6	80.8	81.5	98.5	85.5	0*
Longitud de Raíz (cm)	40 días	16.4	15.0	12.3	13.4	15.4	17.2	13.3	15.6	0*	13.4	13	14.6	10.2	12.4	12.7
	80 días	47.2	50.7	52.5	40.2	43.6	47.8	45.7	42.5	43.0	36.5	32.8	30.4	29	32.6	33.3
	120 días	54.1	50.4	49.1	39.6	37.7	32.5	38.4	29.5	0*	25.3	18.1	23.5	25.6	26.2	0*
Número de Hojas	40 días	14	11	12	10	15	19	17	13	0*	17	16	20	12	16	16
	80 días	23	25	20	17	15	20	15	16	20	17	18	20	17	16	20
	120 días	24	21	22	15	18	23	18	17	0*	17	20	21	20	20	0*
Peso tallo (g)	40 días	54.0	52.1	58.3	49.6	55.1	61.1	63.0	56.5	0*	54.4	50.8	53.3	44.9	46.1	47.0
	80 días	132.5	143.6	138.1	115.4	121.8	131.2	124.7	112.3	146.0	135.1	120.2	138.7	122.3	119.0	123.9
	120 días	183.1	164.2	143.9	143.2	124.4	112.5	102.4	112.5	0*	131.3	111.2	118.7	161.3	138.5	0.0
Peso raíz (g)	40 días	25.3	21.4	19.4	18.3	22.7	21.5	20.6	22.4	0*	21.3	22.6	21.4	15.2	18.6	17.2
	80 días	56.0	63.6	61.7	44.5	52.3	55.5	54.8	58.3	56.0	48.5	45.2	44.5	40.3	45.7	47.4
	120 días	89.1	92.1	90.3	64.5	58.7	50.3	55.1	45.3	0*	36.7	40.0	37.8	32.5	33.3	0*

Nota: *No se registraron los valores debido a que las plantas no llegaron a desarrollarse

Tabla 5. Concentración de plomo en raíces, órganos aéreos y suelo, a los 40, 80 y 120 días, en base a 4 diferentes concentraciones.

TIEMPO	ÓRGANOS	T1 (400 ppm)			T2 (800 ppm)			T3 (1200 ppm)			T4 (1600 ppm)		
		B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3
40 DÍAS	Suelo	200.27	313.91	229.28	474.72	410.05	827.2	766.89	773.67	767.26	605.47	817.61	1075
	Raíz	221.99	114.23	198.81	396.69	442.86	0	542.98	525.98	564.67	858.06	963.6	582.33
	Órganos Aéreos	46.46	37.76	33.7	46.45	43.65	0	55.44	52.72	60.67	276.37	59.1	121
80 DÍAS	Suelo	294.77	285.49	386.59	619.26	619.23	773.36	1156.37	999.15	788.36	1419.27	1088.58	770.19
	Raíz	144.99	205.09	96.31	307.8	344.04	179.65	220.79	342.48	556.55	404.72	691.77	957.63
	Órganos Aéreos	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
120 DÍAS	Suelo	282.12	266.98	293.03	551.42	527.03	891.67	651.01	1115.95	1297.6	1228.81	1188.07	1475.09
	Raíz	186.49	206.5	147.66	334.43	356.24	0	610.11	99.82	0	439.81	497.53	126.27
	Órganos Aéreos	51.37	56.14	81.89	49.21	50.45	0	52.5	118.71	0	81.48	61.08	77.3

Factor de bioconcentración y translocación

Tabla 6. Factor de bioconcentración en raíces y órganos aéreos.

Parte	Tratamiento	Muestra	Concentración		
			400 ppm	800 ppm	1200 ppm
Raíz	T1	B1	1.10845	0.49188	0.66103
		B2	0.36389	0.71838	0.77347
		B3	0.86711	0.24913	0.50391
	T2	C1	0.83563	0.49704	0.60649
		C2	1.08001	0.55559	0.67594
		C3	0	0.23230	0
	T3	D1	0.70803	0.19093	0.93717
		D2	0.67985	0.34277	0.08945
		D3	0.73596	0.70596	0
	T4	E1	1.41718	0.28516	0.35792
		E2	1.17856	0.63548	0.41877
		E3	0.54170	1.24337	0.08560
Órganos Aéreos	T1	B1	0.23199	>0.00001	0.18209
		B2	0.12029	>0.00001	0.21028
		B3	0.14698	>0.00001	0.27946
	T2	C1	0.09785	>0.00001	0.08924
		C2	0.10645	>0.00001	0.09573
		C3	0	>0.00001	0
	T3	D1	0.07229	>0.00001	0.08064
		D2	0.06814	>0.00001	0.10638
		D3	0.07907	>0.00001	0
	T4	E1	0.45646	>0.00001	0.06631
		E2	0.07228	>0.00001	0.05141
		E3	0.11256	>0.00001	0.05240

Tabla 7. Factor de translocación.

Tratamiento	Muestra	Concentración		
		400 ppm	800 ppm	1200 ppm
T1	B1	0.20929	>0.00001	0.27546
	B2	0.33056	>0.00001	0.27186
	B3	0.16951	>0.00001	0.55458
T2	C1	0.11709	>0.00001	0.14715
	C2	0.09856	>0.00001	0.14162
	C3	0	>0.00001	0

Tabla 7. Factor de translocación.

T3	D1	0.10210	>0.00001	0.08605
	D2	0.10023	>0.00001	1.18924
	D3	0.10744	>0.00001	0
T4	E1	0.32209	>0.00001	0.18526
	E2	0.06133	>0.00001	0.12277
	E3	0.20779	>0.00001	0.61218

ANOVA - Suelo**Tabla 8.** Análisis de Varianza Multifactorial para Suelo

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	3280020	3	1093340	29.91	0
B:Tiempo	287326	2	143663	3.93	0.0334
INTERACCIONES					
AB	173048	6	28841.3	0.79	0.5873
RESIDUOS	877360	24	36556.7		

Tabla 9. Medias por Mínimos Cuadrados para Suelo con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Media global	36	728.354			
TRATAMIENTO					
400	9	283.604	63.733	152.066	415.142
800	9	632.660	63.733	501.122	764.198
1200	9	922.918	63.733	791.380	1054.460
1600	9	1074.230	63.733	942.694	1205.770
TIEMPO					
40	12	605.111	55.194	491.196	719.026
80	12	765.885	55.194	651.970	879.800
120	12	814.065	55.194	700.150	927.980
TRATAMIENTO POR TIEMPO					
400,40	3	247.820	110.388	19.990	475.651
400,80	3	322.283	110.388	94.453	550.114
400,120	3	280.710	110.388	52.880	508.541
800,40	3	570.657	110.388	342.826	798.487
800,80	3	670.617	110.388	442.786	898.447
800,120	3	656.707	110.388	428.876	884.537
1200,40	3	769.273	110.388	541.443	997.104
1200,80	3	977.960	110.388	750.129	1205.790

1200120	3	1021.520	110.388	793.689	1249.350
1600,40	3	832.693	110.388	604.863	1060.520
1600,80	3	1092.680	110.388	864.849	1320.510
1600120	3	1297.320	110.388	1069.490	1525.150

Tabla 10. Resultado de Múltiple Rangos para Suelo por Tratamiento.

TRATAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
400	9	283.604	63.7327	X
800	9	632.66	63.7327	X
1200	9	922.918	63.7327	X
1600	9	1074.23	63.7327	X

Nota: 95 % LSD

Tabla 11. Contraste de Múltiple Rangos para Suelo por Tratamiento.

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
400 - 800	*	-349.056	186.023
400 - 1200	*	-639.313	186.023
400 - 1600	*	-790.628	186.023
800 - 1200	*	-290.258	186.023
800 - 1600	*	-441.572	186.023
1200 - 1600		-151.314	186.023

Nota: * indica una diferencia significativa.

ANOVA - Raíz

Tabla 12. Análisis de Varianza Multifactorial para Raíz

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	997416	3	332472	9.85	0.0002
B:Tiempo	244759	2	122379	3.62	0.0421
INTERACCIONES					
AB	226820	6	37803.3	1.12	0.3806
RESIDUOS	810369	24	33765.4		

Tabla 13. Medias por Mínimos Cuadrados para Raíz con intervalos de confianza del 95 %

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Media global	36	357.469			
TRATAMIENTO					
400	9	169.119	61.2512	42.7024	295.535
800	9	262.412	61.2512	135.996	388.829
1200	9	384.82	61.2512	258.403	511.237
1600	9	613.524	61.2512	487.108	739.941
TIEMPO					
40	12	451.017	53.0451	341.537	560.497
80	12	370.985	53.0451	261.505	480.465
120	12	250.405	53.0451	140.925	359.885
TRATAMIENTO POR TIEMPO					
400,40	3	178.343	106.09	-40.6165	397.303
400,80	3	148.797	106.09	-70.1632	367.757
400,120	3	180.217	106.09	-38.7432	399.177
800,40	3	279.85	106.09	60.8902	498.81
800,80	3	277.163	106.09	58.2035	496.123
800,120	3	230.223	106.09	11.2635	449.183
1200,40	3	544.543	106.09	325.583	763.503
1200,80	3	373.273	106.09	154.313	592.233
1200,120	3	236.643	106.09	17.6835	455.603
1600,40	3	801.33	106.09	582.37	1020.29
1600,80	3	684.707	106.09	465.747	903.667
1600,120	3	354.537	106.09	135.577	573.497

Tabla 14. Resultado de Múltiple Rangos para Raíz por Tratamiento.

TRATAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
400	9	169.119	61.2512	X
800	9	262.412	61.2512	XX
1200	9	384.82	61.2512	X
1600	9	613.524	61.2512	X

Nota: 95 % LSD**Tabla 15.** Contraste de Múltiple Rangos para Raíz por Tratamiento.

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
400 - 800		-93.2933	178.78
400 - 1200	*	-215.701	178.78
400 - 1600	*	-444.406	178.78
800 - 1200		-122.408	178.78
800 - 1600	*	-351.112	178.78
1200 - 1600	*	-228.704	178.78

Nota: * indica una diferencia significativa.

ANOVA - Órganos Aéreos

Tabla 16. Análisis de Varianza Multifactorial para Órganos Aéreos

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	14541.2	3	4847.08	3.23	0.0403
B:Tiempo	32789.7	2	16394.9	10.92	0.0004
INTERACCIONES					
AB	16491.3	6	2748.55	1.83	0.1354
RESIDUOS	36038.6	24	1501.61		

Tabla 17. Medias por Mínimos Cuadrados para Órganos Aéreos con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	CASOS	MEDIA	ERROR EST.	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Media global	36	42.0406			
TRATAMIENTO					
400	9	34.147	12.9169	7.48784	60.8062
800	9	21.0848	12.9169	-5.57438	47.7439
1200	9	37.7826	12.9169	11.1234	64.4417
1600	9	75.1481	12.9169	48.489	101.807
TIEMPO					
40	12	69.4433	11.1863	46.3558	92.5308
80	12	0.001	11.1863	-23.0865	23.0885
120	12	56.6775	11.1863	33.59	79.765
TRATAMIENTO POR TIEMPO					
400,40	3	39.3067	22.3727	-6.86835	85.4817
400,80	3	0.001	22.3727	-46.174	46.176
400,120	3	63.1333	22.3727	16.9583	109.308
800,40	3	30.0333	22.3727	-16.1417	76.2084
800,80	3	0.001	22.3727	-46.174	46.176
800,120	3	33.22	22.3727	-12.955	79.395
1200,40	3	56.2767	22.3727	10.1016	102.452
1200,80	3	0.001	22.3727	-46.174	46.176
1200,120	3	57.07	22.3727	10.895	103.245
1600,40	3	152.157	22.3727	105.982	198.332
1600,80	3	0.001	22.3727	-46.174	46.176
1600,120	3	73.2867	22.3727	27.1116	119.462

Tabla 18. Resultado de Múltiple Rangos para Órganos Aéreos por Tratamiento.

TRATAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
400	9	21.0848	12.9169	X
800	9	34.147	12.9169	XX
1200	9	37.7826	12.9169	X
1600	9	75.1481	12.9169	X

Nota: 95 % LSD

Tabla 19. Contraste de Múltiple Rangos para Órganos Aéreos por Tratamiento.

CONTRASTE	SIG.	DIFERENCIA	+/- LÍMITES
400 - 800		13.0622	37.7017
400 - 1200		-3.63556	37.7017
400 - 1600	*	-41.0011	37.7017
800 - 1200		-16.6978	37.7017
800 - 1600	*	-54.0633	37.7017
1200 - 1600		-37.3656	37.7017

Nota: * indica una diferencia significativa.

ANEXO C: Tabla de datos metereológicos

SEMANA	DIA	T. MIN	T. MAX	T. MEDIO	H. RELATIVA
35-2019	24/08/2019	4.5	25.2	14.9	72
36-2019	31/08/2019	2.3	23.2	12.8	69
37-2019	07/09/2019	5.1	22.4	13.8	73
38-2019	14/09/2019	4.2	22.8	13.5	72
39-2019	21/09/2019	4.3	25.1	14.7	70
40-2019	28/09/2019	5.6	24.3	15.0	73
41-2019	05/10/2019	6.4	22.0	14.2	68
42-2019	12/10/2019	4.7	23.7	14.2	72
43-2019	19/10/2019	8.1	22.4	15.3	75
44-2019	26/10/2019	7.2	25.1	16.2	74
45-2019	02/11/2019	6.9	24.8	15.9	73
46-2019	09/11/2019	9.3	22.0	15.7	78
47-2019	16/11/2019	8.8	21.9	15.4	82
48-2019	23/11/2019	8.7	21.8	15.3	77
49-2019	30/11/2019	7.6	24.1	15.9	71
50-2019	07/12/2019	9.5	21.5	15.5	78
51-2019	14/12/2019	7.6	22.2	14.9	76
52-2019	21/12/2019	8.0	21.6	14.8	77
53-2019	28/12/2019	10.2	21.2	15.7	74
1-2020	04/01/2020	10	21.1	15.6	80
2-2020	11/01/2020	7.2	21.7	14.5	80
3-2020	18/01/2020	7.0	20.4	13.7	76
4-2020	25/01/2020	7.4	21.3	14.4	81