

UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



TESIS

**ESTUDIO DEL POTENCIAL DE FITOEXTRACCIÓN
DE SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO
PROMOVIDO CON LA FERTILIZACIÓN
NITROGENADA USANDO LA MOSTACILLA
(Brassica campestris)**

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

YERLY ANALI MENDEZ REVOLLAR

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AMBIENTAL

HUANCAYO-PERÚ

2018

**ESTUDIO DEL POTENCIAL DE FITOEXTRACCIÓN DE
SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO PROMOVIDO CON
LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA USANDO LA
MOSTACILLA (*Brassica campestris*)**

ASESOR

Mg. Lavado Meza, Carmencita del Roció

DEDICATORIA: Dedico de manera especial la presente investigación a mi madre, pues ella es el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, ella sembró en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ella tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarla cada día más. A mi padre y hermana que son las personas que me han ofrecido el amor y la calidez de la familia a la cual amo. A mi hermano que me dio la fortaleza de seguir adelante que, aunque ya no se encuentre con nosotros, aún sigue iluminando nuestro camino.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre por estar a mi lado, por sus palabras de aliento y por creer en mí, a mi padre y a todas las personas que estuvieron empujándome para desarrollar la presente investigación, ya que sin ellos, sin sus impulsos tal vez me hubiera desviado del objetivo.

Agradezco a mi asesora por su apoyo y dedicación; y a mi familia por su constancia.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
INDICE DE CONTENIDOS.....	vi
GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	ix
INDICE DE TABLAS.....	x
INDICE DE GRAFICOS.....	xi
INDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMÉN.....	xiv
ABSTRAC.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	xvi
CAPITULO.....	19
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	19
1.2. Formulación del problema.....	21
1.2.1. Problema general.....	21
1.2.2. Problemas específicos.....	21
1.3. Objetivos.....	21
1.3.1. Objetivo general.....	21
1.3.2. Objetivos específicos.....	22
1.4. Justificación.....	22
1.5. .Importancia.....	23
1.6. Limitaciones.....	23
1.6.1. Delimitación temporal.....	23
1.6.2. Delimitación espacial.....	23
CAPITULO II.....	24
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	24

2.1.	Marco referencial.....	24
2.1.1.	Antecedentes de la investigación.....	24
2.2.	Marco legal.....	27
2.2.1.	Constitución Política del Perú.....	27
2.2.2.	Ley.....	27
2.2.3.	Decreto Supremo.....	28
2.3.	Marco conceptual.....	28
2.3.1.	Contaminación.....	28
2.3.2.	Deterioro de los recursos naturales.....	29
2.3.3.	Suelos contaminados.....	30
2.3.4.	El Plomo en suelos.....	30
2.3.5.	Fitorremediación.....	31
2.3.6.	Fitoextracción inducida.....	31
2.4.	Marco teórico.....	32
2.4.1.	La contaminación.....	32
2.4.2.	La contaminación en el Perú.....	35
2.4.3.	La contaminación de suelos.....	37
2.4.4.	Metales pesados como contaminantes ambientales.....	39
2.4.5.	El Plomo.....	43
2.4.6.	Tecnologías ambientales biológicas.....	48
2.4.7.	La biorremediación.....	48
2.4.8.	La fitorremediación.....	49
2.4.9.	Plantas hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras.....	60
2.4.10.	La biodisponibilidad de metales pesados.....	64
2.4.11.	Estrategias para el mejoramiento de la fitoextracción	69
CAPITULO III.....		72
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	72
3.1.	Metodología.....	72
3.1.1.	Método.....	72
3.1.2.	Tipo de investigación.....	80
3.1.3.	Nivel de la investigación.....	80
3.2.	Diseño de la investigación.....	80
3.2.1.	Diseño experimental	81

3.3.	Hipótesis de la investigación.....	81
3.3.1.	Hipótesis general.....	81
3.3.2.	Hipótesis específica.....	81
3.4.	Variables.....	82
3.4.1.	Variable independiente.....	82
3.4.2.	Variable dependiente.....	82
3.4.3.	Operacionalización de las variables.....	82
3.5.	Cobertura del estudio.....	83
3.5.1.	Población.....	83
3.5.2.	Muestra	83
3.5.3.	Muestreo.....	83
3.6.	Técnicas e instrumentos.....	83
3.6.1.	Técnicas de investigación.....	83
3.6.2.	Instrumentos de investigación.....	83
3.7.	Procesamiento estadístico de la información.....	83
CAPITULO IV.....		84
4.	ORGANIZACIÓN, PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS....	84
4.1.	Resultados.....	84
4.1.1.	Caracterización fisicoquímica del suelo.....	84
4.1.2.	Concentración de Pb en la muestra inicial de suelo.....	85
4.1.3.	Resultado de los análisis de las muestras de los tratamientos.....	86
4.2.	Discusión de resultados.....	88
4.2.1.	Influencia de las dosis de Nitrógeno.....	88
4.2.2.	Concentración de Pb en la parte aérea y raíz de la planta.....	93
4.2.3.	Factor de traslocación y bioconcentración de la planta.....	98
4.3.	Contrastación de las hipótesis.....	98
CONCLUSIONES.....		106
RECOMENDACIONES.....		108
BIBIOGRAFIA.....		109
ANEXOS.....		115

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

CE

Conductividad Eléctrica

CIC

Capacidad de Intercambio Catiónico

ECA

Estándar de Calidad Ambiental

EDTA

Ácido etilendiaminotetraacético

EPA

Environmental Protection Agency

FBC (BC)

Factor de Bioconcentración

FDA

Food and Drug Administration

FT (TF)

Factor de Translocación

HEIDA

Ácido hidroxietilenoiminodiacético

MS

Masa Seca

NTA

Ácido nitroloeno triacético

OMS

Organización Mundial de la Salud

PBI

Producto bruto Interno

PEA

Población Económicamente Activa

SNC

Sistema Nervioso Central

%FR

Porcentaje de Fitoreducción

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1	Tipos de mecanismos de fitorremediación	57
Tabla N°2	Descripción del número tratamiento y repeticiones	75
Tabla N°3	Diseño de bloques de un solo factor con cuatro tratamientos y tres Repeticiones	81
Tabla N°4	Operacionalización de las variables e indicadores del estudio	82
Tabla N°5	Análisis fisicoquímico de la muestra de suelo	84
Tabla N°6	Resultado del análisis de la muestra de suelo sin Pb saturado y con Pb saturado	85
Tabla N°7	Resultados del peso de la Masa Seca de la raíz respecto a los diferentes tratamientos	86
Tabla N°8	Resultados del peso de la Masa Seca de la parte aérea respecto a los diferentes tratamientos	86
Tabla N°9	Resultados de la longitud de la raíz de la planta respecto a la aplicación de los diferentes tratamientos	86
Tabla N°10	Resultados de la longitud de la parte aérea de la planta respecto a la aplicación de los diferentes tratamientos	87
Tabla N°11	Resultados de los análisis de concentración de Pb en la parte aérea después de los tratamientos	87
Tabla N°12	Resultados de los análisis de concentración de Pb en la raíz después de los tratamientos	88
Tabla N°13	Comparación múltiple de las medias de la longitud de la parte aérea de la planta con respecto a las dosis de N agregadas.	90
Tabla N°14	Comparación múltiple de las medias la longitud de la raíz de la planta con respecto a las dosis de N agregadas.	91
Tabla N°15	Comparación múltiple de las medias de la concentración de Pb en la raíz con respecto a las diferentes dosis de N agregadas	93
Tabla N°16	Comparación múltiple de las medias de la concentración de Pb en la parte aérea con respecto a las diferentes dosis de N agregadas	94
Tabla N°17	Factor de translocación y bioconcentración de la planta	98
Tabla N°18	Diseño de bloques respecto al efecto de las dosis de Nitrógeno sobre la concentración de Pb en la raíz de la planta	101
Tabla N°19	Diseño de bloques respecto al efecto de las dosis de Nitrógeno	

sobre la concentración de Pb en la parte aérea de la planta	101
Tabla N°20 Diseño de bloques respecto al efecto de las dosis de Nitrógeno sobre la longitud de la raíz de la planta	103
Tabla N°21 Diseño de bloques respecto al efecto de las dosis de Nitrógeno sobre la longitud de la parte aérea de la planta.	104

INDICE DE GRAFICOS

Grafico N°1 Influencia de las dosis de N sobre el promedio de las masa seca (MS)	89
Grafico N°2 Longitud de la planta en relación al N agregado	92
Grafico N°3 Relación de la concentración de Pb en la planta con respecto a la dosis de nitrógeno agregado	96
Grafico N°4 pH del suelo después del tratamiento en relación al N al tratamiento con la BC	97

INDICE DE FIGURAS

Figura N°1 Proceso de fitoextracción	51
Figura N°2 Mecanismos de fitoextracción	54
Figura N°3 Diferencias entre un hiperacumulador y un no hiperacumulador	62
Figura N°4 La mostacilla, nombre científico <i>Brassica campestris</i>	64
Figura N°5 Ubicación de estudio	72
Figura N°6 Flujograma de preparación del sustrato	74
Figura N°7 Macetas sembradas con la <i>Brassica campestris</i>	74
Figura N°8 Proceso de secado y molido de las raíz, tallos y hojas de las plantas	77
Figura N°9 Muestras con los aditivos, el antes y el después de ser Digestadas	78
Figura N°10 Procedimiento de filtrado, aforado y lectura de muestras	78

ANEXOS

ANEXO N° 1: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de Nitrógeno sobre a concentración de Pb en la raíz.	116
ANEXO N°2: Prueba de Tukey y de Duncan para las medias de la concentración de Pb en la raíz	116
ANEXO N°3: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de Nitrógeno sobre la concentración de Pb en la parte aérea.	117
ANEXO N°4: Prueba de Tukey y de Duncan para las medias de la concentración de Pb en la parte aérea	117
ANEXO N° 5: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de Nitrógeno sobre el crecimiento de la longitud de la raíz.	118
ANEXO N°6: Prueba de Tukey y de Duncan para las medias de la longitud de la raíz.	118
ANEXO N°7: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de Nitrógeno sobre el crecimiento de la longitud de la parte aérea.	119
ANEXO N°8: Prueba de Tukey y de Duncan para las medias de la longitud de la parte aérea.	119
ANEXO N°9: Resultados de laboratorio de la caracterización de suelo y concentración de Plomo en el suelo.	120
ANEXO N°10: Resultados de laboratorio del análisis de las concentraciones de Plomo en la planta y suelo.	121
ANEXO N°11: Homogeneización de las muestras de suelo.	122
ANEXO N°12: Macetas sembradas con las especie en estudio.	122
ANEXO N°13: Crecimiento de las plantas en cada maceta.	122
ANEXO N°14: Secado de plantas después de ser cosechadas.	123
ANEXO N°15: Plantas cosechadas secas y molidas.	123
ANEXO N°16: Muestras de la especie puestas en vasos de precipitación	123
ANEXO N°17: Secado de las muestras de la especie en estudio.	124
ANEXO N°18: Diferentes muestras de las plantas puestas en matraces para su análisis.	124
ANEXO N°19: Ácido clorhídrico y peróxido de hidrogeno utilizados en la investigación.	124
ANEXO N°20: Muestras de suelo con los aditivos.	125

ANEXO N°21: Diferentes muestras de la especie en estudio con los aditivos.	125
ANEXO N°22: Muestras en procesos de digestión.	125
ANEXO N°23: Muestras digestadas.	126
ANEXO N°24: Muestras digestadas en proceso de filtración.	126
ANEXO N°25: Muestras filtradas y aforadas.	126
ANEXO N°26: Muestras enfrascadas para su posterior lectura.	127
ANEXO N°27: Muestras siendo leídas por absorción atómica.	127
ANEXO N°28: Muestra de suelo siendo listas para la medición de pH.	127

RESUMÉN

Las actividades mineras y metalúrgicas practicadas en la región Junín, Perú han contaminado el suelo, el aire y el agua. El uso de plantas es una de las estrategias para la remediación de suelos contaminados con metales pesados. Sin embargo, son pocos los estudios sobre fitorremediación aplicando nitrógeno. El objetivo principal de este estudio fue evaluar la capacidad extractora del Plomo (Pb) de la *Brassica campestris* al adicionar Nitrógeno (N) en forma de urea al sustrato contaminado con 2800 mg Pb/kg. Se realizaron 4 tratamientos; uno sembrado solo con la especie, y los otros tres sembrados con la especie y adicionándole 16, 32 y 48 mM de Nitrógeno respectivamente y cada uno con 3 repeticiones. Después de 3 meses de sembradas las plantas y de haberlas regado, se midió la concentración de Pb en la parte aérea y la raíz, lo cual dió como resultado que el Nitrógeno añadido en forma de urea (16, 32 y 48 mM), la dosis de 48 mM acumuló la mayor concentración de Plomo en la raíz de la planta *Brassica campestris* con (241 mg Pb/kg) con respecto a la dosis de 0 mM igual a 71.4 mg Pb/ Kg; y en el parte aérea la planta, las plantas con la dosis de Nitrógeno de 48 mM presenta mayor acumulación de Pb igual a 188.54 mg Pb/Kg con respecto a la dosis de 0 mM igual a 59.4 mg/kg; lo que indica que la adición de N incrementa la fitoextracción del Pb, como se vió reflejado tanto en la parte aérea como en la raíz.

ABSTRACT

Mining and metallurgy activities in Junin, Perú have contaminated soil, air and water. The use of plants is one strategy for the remediation of soils contaminated with heavy metals. However, few studies on remediation applying nitrogen have been performed. The aim of this study was to evaluate the capacity of *Brassica campestris* to extract Pb adding Nitrogen in urea's form to the substrate contaminated with 2800 mg pb/kg. Were performed four treatments, one sown just with the *Brassica campestris* and the others sown with the plant and adding nitrogen in quantities of 16, 32 and 48 mM. Three months After been sown the plants and with the treatments of nitrogen added, were measured the plomo's concentration in aerial part and the root of the plant. The dose with 48 mM accumulated the higher concentration of Pb en plant's root with 241 mg Pb/ Kg than the plants with the doses with 0 mM equal to 71.4; and on the plant's aerial part the the plants with 48 mM of dose presents higher concentration of Pb equal to 188.54 mg Pb/kg respect to the dose 0 mM that is equal to 59.4 mg Pb/ kg, the results indicate that the addition of nitrogen in urea's form increased the concentration of Pb in root and in the aerial part.

INTRODUCCION

Los metales pesados, en general los elementos traza, están presentes en relativamente bajas concentraciones ($< \text{mg.kg}^{-1}$) en la corteza terrestre, los suelos y las plantas. La presencia de concentraciones nocivas en los suelos es una degradación especial denominada contaminación (Ali. Et al., 2013).

En la era moderna de la rápida industrialización no es posible evitar los químicos tóxicos y los metales pesados en el medio ambiente (Sarwar et al., 2016). Especialmente la contaminación de metales pesados ha sido una amenaza para la seguridad del ambiente y la comida, debido a su rápido crecimiento en las industrias y la agricultura y sus efectos en la alteración de los ecosistemas naturales.

Los metales pesados en el ambiente pueden ser de origen geogénico o antropogénico. Los metales de origen geogénico proceden de la roca madre, de actividad volcánica, o de lixiviación de mineralizaciones. Los metales pesados antropogénicos derivan de residuos peligrosos, procedentes de actividades industriales, minería e industria agrícola, y residuos sólidos urbanos (RSU). Las actividades mencionadas permiten la acumulación de estos elementos en suelos agrícolas, recursos hídricos, aire y por consiguiente su inclusión en la cadena alimenticia lo cual genera perjuicios en la salud humana y demás seres vivos. La contaminación por metales pesados en suelos viene dada no solo por su concentración total, sino esencialmente por su disponibilidad (Ali. Et al., 2013).

Los metales pesados son definidos como los metales que tienen un número atómico más grande que 20 los cuales son metales de transición, metaloides, actínidos y lantánidos. En procesos biológicos, los metales pesados son clasificados en dos tipos: esenciales y no esenciales.; los metales pesados esenciales son necesitados por el organismo en muy pequeñas cantidades e incluyen al Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co, Mo, en contraste, los metales pesados no esenciales no son necesitados por el organismo para poder vivir y son el Cd, Pb, As, Hg y el Cr (Ali et al., 2013). Debido a que los metales pesados no son biodegradables, el incremento de su concentración puede ser altamente peligrosa para la vida en la tierra, humanos, plantas y animales (F. Danza et al., 2010).

Uno de los metales pesados, el cual ha preocupado su uso en actividades industriales y su acumulación y toxicidad en el suelo es el Plomo debido a sus efectos perjudiciales en el medio ambiente y la salud humana por ejemplo el arseniato de plomo es usado como un insecticida el cual contamina directamente al suelo, el plomo es usado para la fabricación de pinturas, en la gasolina, fabricación de explosivos, y se encuentra en los lodos de las aguas residuales y en suelos agrícolas cercanos a industrias, así como en muchos sitios alrededor del mundo son contaminados por este elemento (Danza et al., 2010).

La acumulación de metales pesados en plantas inhibe o activa ciertos procesos enzimáticos afectando su productividad en aspectos cualitativos y cuantitativos (Ali. Et al., 2013), sin embargo no toda planta es afectada por estos elementos, estudios indican que existen especies capaces de consumir elementos contaminantes del suelo y preservarlos en sus tejidos y ahí es donde entra una nueva tecnología para la remediación de suelos contaminados con metales pesados, llamada fitorremediación la cual a través de la fitoextracción remueve contaminantes del suelo. Un número de técnicas físicas, químicas y biológicas pueden ser usadas para remediar la contaminación de suelos, sin embargo la fitorremediación ha sido reconocida como un método de costo efectivo para la remediación de suelos contaminados con metales (Sarwar. et al., 2016).

La fitorremediación puede ser definida como el uso combinado de plantas, suelo y practicas agronómicas para remover contaminantes de un ambiente o disminuir su toxicidad, esta técnica puede ser empleada aplicando varios enfoques los cuales incluyen la fitoextracción, fitovolatilización, y la fitoestabilización (Delgadillo. Et al., 2011). En particular la fitoextracción se refiere a la habilidad de una planta hiperacumuladora de consumir metales del suelo y trasportarlo a su sistema, los cuales son capaces de acumular concentraciones mayores a 100 veces más que la cantidad encontrada en una especie no acumuladora (Bruneti. et al., 2010), la fitoextracción que se basa en la absorción de los contaminantes del suelo por las plantas se encuentran dos estrategias básicas que son fitoextracción continua, la cual se lleva a cabo por plantas hiperacumuladoras capaces de acumular contaminantes en la parte aérea concentraciones muy altas de metales y fitoextracción inducida, se debe a la adición al suelo de una enmienda que incremente la biodisponibilidad lo que favorece la toma del metal por la raíz, el empleo de enmiendas al suelo y otras técnicas agronómicas sirven

para eliminar, retener o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo entre estas enmiendas se encuentran los fertilizantes agronómicos (N,P,K). (Delgadillo. Et al., 2011) se ha demostrado que la adición de fertilizantes al suelo puede provocar un incremento en la fitoextracción de metales pesados por plantas acumuladoras, la urea incrementa el cadmio intercambiable y soluble en agua del suelo, probablemente a través de la acidificación, (Sheoran. Et al., 2015). El ion amonio puede provocar la desorción de metales pesados de los sitios de intercambio o de los coloides de suelo mediante intercambio de iones y así facilitar la absorción por las plantas (Sheoran. Et al., 2015).

Diversos estudios han reportado que la Mostacilla es un planta hiperacumuladora capaz de adsorber metales pesados y mantenerlos en sus tallos y hojas a niveles altos, sin embargo no se han evidenciado investigaciones que reporten en el uso y la influencia de la adición de fertilizantes los cuales potencien la biodisponibilidad de los metales en el suelo para su adsorción por hiperacumuladoras, es por ello que el presente estudio tiene la finalidad de demostrar que se puede potenciar el nivel de adsorción de metales pesados por hiperacumuladoras en este caso por la mostacilla, agregando Nitrógeno en forma de urea, así acortando del tiempo de tratamiento y de por si fitoextrayendo altas cantidades de metales de suelo.

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Caracterización de la realidad problemática.

Con la llegada de primera y segunda revolución industrial (1750 - 1850) la contaminación a nivel mundial comenzó a incrementarse debido a la creación de industrias tales como la siderometalúrgica, la industria química, las industrias productoras de cemento, las fundidoras de metal, el desarrollo de trasportes y el petróleo (Sierra et al.,2014). En la era moderna se han introducido nuevos contaminantes con un potencial más dañino; los residuos generados por estas actividades comenzaron a concentrarse en el medio ambiente cabe especificar en sus compartimentos ambientales tales como el suelo, agua y aire generando grandes impactos ambientales como infertilidad del suelo, baja producción de biomasa, volviendo toxica al recurso hídrico y su introducción indirecta a la cadena alimenticia creando problemas a la salud humana y demás seres vivos (Sierra et al.,2014).

Los metales pesados son necesarios para los organismos solo en bajas cantidades tales como el Cu, Ni, Zn, Mn, Co, y también el Cd, juegan un papel importante como micronutrientes siendo esenciales para el crecimiento y desarrollo de los seres vivos, ellos son cofactores de enzimas

y están involucrados en importantes procesos como es la fotosíntesis en caso de las plantas; sin embargo su acumulación excesiva puede ser dañina; muy de lo contrario existen metales pesados por si decirlos no esenciales para los organismos los cuales tienden a acumularse en suelo, plantas, animales y seres humanos alterando su desarrollo, estos elementos son el Pb, Cd, Cr, Co, Ag, Se, Hg (Sheoran. et al., 2015).

El plomo es un metal pesado no esencial, tiene la capacidad de bioacumularse es por ello que su concentración en plantas y animales se magnifica a lo largo de la cadena alimenticia por no tener la capacidad de biodegradarse (Yulieth. Et al., 2016). El plomo es muy usado en la industria como es en la fabricación de pigmentos, recipientes, pilas eléctricas, munición de armas, dinamita, plomo laminado, soldaduras, ciertos tipos de metal, producción de pinturas (Yulieth. Et al., 2016). En la era de la revolución industrial, la intoxicación por plomo se convirtió en un problema de la medicina ocupacional, pues el mayor número de intoxicados eran operarios que manipulaban plomo, también muchos pintores sufrieron intoxicaciones por el repetido contacto con pinturas a base de metal (Sierra et al, 2014). Hoy en día debido a la magnitud de exposiciones a este metal se potenciaron los efectos en la salud humana, ya no son intoxicaciones, ahora son problemas de salud con enfermedades graves como alteraciones orales como el Ribete de Burton, manifestaciones gastrointestinales, alteraciones hematológicas (anemia microcítica-hipocrómica), parálisis motoras, encefalopatía, alteraciones renales, nefropatías y daños sobre el SNC y SNP y cólicos saturninos (Azcona, et al., 2015).

Según los estudios reportados por el Proyecto el Mantaro Revive (2008), los suelos agrícolas de la cuenca del río Mantaro están contaminados con metales pesados, destacando entre ellos el Pb, llegando este a concentraciones de hasta 8154 mg Pb/Kg en tierras agrícolas de la Oroya Antigua, este valor sobrepasa ampliamente los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas (70 mg Pb/Kg). Es por ello la necesidad de estudiar tecnologías que permitan la eliminación de este metal pesado de los suelos agrícolas sobresaturados con Pb, siendo una de ellas la fitorremediación, esta puede ser definida como el uso combinado de

plantas, suelo y practicas agronómicas para remover contaminantes de un ambiente o disminuir su toxicidad (Ali. Et al., 2013).

La *Brassica campestris* es una de las plantas más utilizadas para la fitorremediación de suelos debido a su característica colonizadora a pesar de las condiciones extremas; y su capacidad de absorber metales pesados e incorporarlos en algunos de sus órganos sin perjudicarse (Young-Mathews, et al., 2012); y si a esta tecnología de fitorremediación de suelos usando la *Brassica campestris* adicionáramos la fertilización con Nitrógeno se potenciaría la capacidad de fitoextracción de la planta debido a que el Nitrógeno provee al suelo de nutrientes necesitados para un mayor rendimiento de la planta y biodisponibilidad del metal (Chang. Et al., 2013).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la influencia de la fertilización nitrogenada en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo usando mostacilla (*Brassica campestris*)?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del suelo?
- ¿Cuál es la influencia de la dosis de nitrógeno sobre la concentración de plomo en las raíces y parte aérea de la especie en estudio?
- ¿Cuál es la influencia de la dosis de nitrógeno sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio?
- ¿Cuáles son los coeficientes de bioconcentración y traslocación de plomo en la especie en estudio?

1.3. Objetivo de la investigación

1.3.1. Objetivo principal

- Evaluar la influencia de la fertilización nitrogenada en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo usando mostacilla (*Brassica campestris*).

1.3.2. Objetivo específico

- Determinar las características fisicoquímicas del suelo.
- Evaluar la influencia de la dosis de nitrógeno sobre la concentración de plomo en las raíces y parte aérea de la especie en estudio.
- Evaluar la influencia de la dosis de nitrógeno sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio.
- Evaluar los coeficientes de bioconcentración y translocación del plomo en la especie en estudio.

1.4. Justificación de la investigación

La contaminación por metales pesados al pasar de los años se ha convertido en un problema grave para los seres vivos, muy aparte que también han alterado los equilibrios naturales de diversos ecosistemas. Los metales pesados son liberados a través de diferentes procesos ya sean antropológicos o naturales y son altamente peligrosos debido a sus efectos perjudiciales en los seres vivos entre ellos se encuentran Cu, Ni, Zn, Mn, Co, y también el Cd los cuales son necesarios para los organismos solo en bajas cantidades ya que juegan un papel importante como micronutrientes siendo esenciales para el crecimiento y desarrollo de los seres vivos; y los metales como el Pb, Cd, Cr, Co, Ag, Se, Hg no esenciales para los organismos los cuales tienden a acumularse en suelo, plantas, animales y seres humanos alterando su desarrollo. (Sheoran. et al., 2015). Estos elementos pueden estar retenidos en el ambiente por procesos de adsorción, de complejación, precipitación, de ahí son absorbidos por plantas y animales; así incorporándose a cadenas trófica (Yulieth. Et al., 2013).

Diversos estudios realizados en el Perú han demostrado la contaminación de suelos por estos elementos, cabe resaltar el estudio realizado por el Proyecto el Mantaro Revive el cual en sus estudios realizados en los años 2007-2008 de la evaluación del contenido de metales y metaloides en suelos de la zona alta y media de la cuenca hidrográfica del río Mantaro, en sus resultados obtenidos, el lugar que obtenía una alta contaminación

por Pb era la ciudad de la Oroya Antigua, la cual contenía en sus suelos agrícolas concentraciones de hasta 8154 mg Pb/Kg este valor sobrepasa ampliamente los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas (70 mg Pb/Kg).

Una opción que permite mitigar la contaminación en suelos por metales pesados es la

fitorremediación la cual es una estrategia dentro de la biorremediación que se enfoca en el uso de especies vegetales y la capacidad de ellas de absorber, acumular y tolerar altas concentraciones de sustancias contaminantes. Por medio del sistema de interacción suelo-planta se busca extraer el elemento Plomo u otro metal determinando para disminuir su contenido en este tipo de suelos, buscando minimizar el impacto causado por este mineral y por tanto el riesgo que genera a esta población y a su producción agrícola (Greisson. Et al, 2011). Es debido a lo explicado en el presente trabajo se busca minimizar los metales pesados contenidos en suelos a través de la fitoextracción, aplicando una especie hiperacumuladora que es la *Brassica campestris*.

1.5. Importancia de la investigación

La importancia de la investigación radica en plantear una alternativa de recuperación de suelos contaminados con plomo, los cuales son una fuente de producción agrícola, ganadera; sin embargo su producción se ve afectada debido a que elementos como los metales pesados y con un potencial de peligrosidad se introducen en el suelo y hacen que disminuya la calidad de los productos generados o las actividades económicas desarrolladas en la zona.

1.6. Delimitación de la investigación

1.6.1. Delimitación temporal

- El experimento se llevó a cabo en un período de cuatro meses.

1.6.2. Delimitación espacial

- El experimento se llevó a cabo en el invernadero instalado en la Universidad Alas Peruanas.

CAPITULO II

2. FUNDAMENTOS TEORICOS

2.1. Marco referencial

2.1.1. Antecedentes de la investigación

Souhila et al. (2016) estudiaron la fitorremediación de suelos contaminados con Zn usando mostacilla (*Brassica rape*) llegaron a la conclusión que el aumento de las concentraciones de Zn en el suelo estimula la fitorremediación es decir la acumulación de este elemento en las plantas. La fitorremediación es el proceso que utiliza las plantas para extraer, secuestrar o desintoxicar contaminantes en suelos. Esta acumulación produce un crecimiento favorable de los parámetros de Canola (por ejemplo, el número de hojas). El Índice de Tolerancia (TI) calculado después de 3 meses de experimento (12 semanas), para todas las concentraciones de Zn, es superior a 1. Esto confirma que la canola es una planta hiperacumuladora de Zn. Por lo tanto, la canola es una buena opción para la descontaminación del suelo de Zn. A

concentraciones medias a altas de Zn en el suelo, la planta desarrolla un sistema de raíz denso y bien ramificado. Observaron que a concentraciones de 400 mg kg⁻¹ y 500 mg kg⁻¹, el sistema radicular de canola fue más denso comparando a la observada en otras concentraciones. Algunas plantas suelen tener sistemas de limpieza y respuestas a diversas tensiones la contaminación del suelo por Zinc es un estrés metálico que la canola es capaz de evitar, lo que explica los resultados. La canola puede soportar las concentraciones altas de Zinc sin ser afectados. Sin embargo, el exceso de Zn puede tener efectos negativos sobre las plantas como retrasar o disminuir el crecimiento y el desarrollo radicular, causando clorosis foliar, de acuerdo con los resultados obtenidos en ese estudio, puede deducirse que el Zinc se acumuló en las hojas, ya que a concentraciones elevadas de Zn, que corresponden a 500 mg kg⁻¹.

Bech et al. (2016) Realizaron un estudio de las plantas bioacumuladoras de metales pesados en la mina Carolina en Cajamarca Perú, todas las especies en estudio tuvieron la habilidad de transportar elementos peligrosos desde el suelo hasta sus raíces y plantas el metal que mayor se concentró fue el plomo, la especie *Hapalotricha, repens denticulatum* fueron las que acumularon mayores concentraciones de plomo.

Cheng et al, (2015) realizaron estudios de fitorremediación de plomo usando el maíz, la concentración inicial de plomo en el suelo fue 6000 mg/Kg, la especie de maíz que estudiaron fue altamente tolerante al plomo contenido en el suelo, ya que el crecimiento ni la producción de la biomasa fue afectada. Encontraron mayores concentraciones de plomo en las raíces de las plantas, seguidas por las hojas y los frutos.

Chang et al. (2013) estudiaron la influencia de la adición de fertilizantes nitrogenados, la fertilización estimula la acumulación de cadmio en la raíces de la planta en estudio (*Pentas Laceolata*). La adición de fertilizantes nitrogenados incrementa en coeficiente de bioconcentración a un valor mayor a uno, lo que indica que esta

planta sería un hiperacumulador, el tratamiento con fertilizantes nitrogenados favorece la fitorremediación del cadmio en suelos. Así mismo observaron que no hubo efectos adversos evidentes del tratamiento con Cd de los brotes y posterior floración en la planta lo que favorece su uso como conservador del paisaje.

Brunetti et al. (2011) Estudiaron la fitoextracción de Cr, Cu, Pb y Zn por *Brassica napus* en suelos contaminados en la región de Apulia, en el sur de Italia en campo e invernaderos, la especie muestra alta acumulación y tolerancia de Cr, Cu, Pb y Zn. En condiciones de invernadero se encontró que la acumulación de metales era mayor en los brotes que en las raíces, lo cual es el comportamiento típico de las especies acumuladoras. En el experimento de campo, la *B. napus* no consiguió la misma cantidad de metales acumulados alcanzados bajo condiciones de invernadero, la acumulación de metales estudiados en las partes de las plantas fue relativamente baja, las raíces acumuladas más que los brotes que muestran los mecanismos de tolerancia que permite a la *B. napus* hacer frente a la alta concentración de metales en el suelo.

Landeros et al., (2011) Este estudio se llevó a cabo ex situ para evaluar la tasa de fitoextracción de plomo en *Acacia Farnesiana*. Se utilizaron árboles jóvenes (n=48), colocados en macetas plásticas, en donde se agregó una combinación de tres concentraciones de plomo (0, 250 y 500 mg·kg⁻¹) en forma de Pb (NO₃)₂ y cuatro dosis de nitrógeno (0, 100, 300 y 500 mg·kg⁻¹) en forma de Fosfo-Nitrato (33-03-00). Se evaluó la tasa fotosintética y la concentración de plomo en raíz, tallo y hoja. Las dosis de nitrógeno y las concentraciones de plomo por separado no produjeron diferencias significativas en la tasa fotosintética de las plantas de huizache, pero la interacción entre esos dos factores fue estadísticamente significativa (P=0.0074), encontrándose que la mayor acumulación de plomo ocurrió en la parte aérea de la planta con una media de 352.34 mg·kg⁻¹.

A nivel mundial y desde hace ya décadas, los estudios realizados acerca de la contaminación de suelos por Plomo y la búsqueda de

posibles alternativas de remediación han ido tomando importancia debido a la peligrosidad de estos elementos para los seres vivos, sin embargo estudios de fitorremediación de suelos aplicando diferentes especies vegetativas para la recuperación de suelos contaminados por elementos químicos han sido escasos, no obstante a la fecha se han presentado diversos casos de investigaciones de fitorremediación en suelos los cuales han presentado buenos resultados, cabe mencionar que en España estudios realizados en el 2001 por la universidad de Santiago de Compostela se realizó un análisis de la problemática del selenio en suelos contaminados del Estado de California (EE. UU.), y se reveló que por medio de la capacidad de bioacumulación es decir la absorción por parte de las plantas acuáticas y de volatilización del Se por parte de las plantas y microorganismos se logró disminuir la concentración de Se. Varios estudios después, se logró determinar que la *Brassica juncea* lograse ser capaz de acumular Se y además de tolerar salinidad.

2.2. Marco legal

2.2.1. Constitución Política

- Constitución Política del Perú

Artículo 2º, apartado 22; establece que toda persona tiene derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado, al desarrollo de su vida.

2.2.2. Ley

- Ley N° 28611, Ley General del Ambiente

Artículo I.- toda persona tiene derecho irrenunciable a vivir en un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida.

Artículo N°31, apartado 31.1; El Estándar de Calidad Ambiental establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos presentes en el aire, agua o suelo en su condición de cuerpo receptor, que

no representa riesgo significativo para la salud humana de las personas ni al ambiente.

Artículo N°66, apartado 66.1; la prevención de riesgos y daños a la salud de las personas es prioritaria en la gestión ambiental.

Artículo N° 98, La conservación de los ecosistemas se orienta a conservar los ciclos y procesos ecológicos, a prevenir procesos de su fragmentación por actividades antrópicas y a dictar medidas de recuperación y rehabilitación, dando prioridad a ecosistemas especiales o frágiles.

2.2.3. Decreto Supremo

- Mediante el **Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM** se aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo.

Artículo 8°, El Plan de Descontaminación de Suelos determina las acciones de remediación correspondientes, tomando como base los estudios de caracterización de sitios contaminados, en relación a las concentraciones de los parámetros regulados en los ECA para suelo. En caso el nivel de fondo de un sitio excediera el ECA correspondiente para un parámetro determinado, se utilizará dicho nivel como concentración objetivo de remediación.

ECA para suelo, establece como suelo agrícola contaminado con Pb, si este sobrepasa los niveles de 70 mg/kg MS.

2.3. Marco Conceptual

2.3.1. Contaminación

La contaminación es la presencia o incorporación al ambiente de sustancias o elementos tóxicos que son perjudiciales para el hombre o los ecosistemas (seres vivos). Existen diferentes tipos de contaminación, Los tipos de contaminación más importantes son los que afectan a los recursos naturales básicos: el aire, los suelos y el agua. Algunas de las alteraciones medioambientales más graves relacionadas con los fenómenos de contaminación son los escapes radiactivos, el smog, el efecto invernadero, metales pesados en altas cantidades, la lluvia ácida, la destrucción de la capa de ozono, la

eutrofización de las aguas o las mareas negras (Encinas. Et al., 2011).

2.3.2. Deterioro de los recursos naturales

Como es conocido, le acelerado deterioro ambiental de origen humano de las últimas décadas se ha convertido en uno de los problemas mundiales más agudos. Ello en virtud de que, si bien los problemas ambientales derivados de la acción del hombre sobre la naturaleza no son nuevos en la historia, al presente concurren nuevos factores en un marco en el cual, habiendo alcanzado un avance científico y tecnológico que le confiere una enorme capacidad para influir en la biósfera, no ha logrado un avance correlativo en el dominio de sus relaciones sociales. Entre los factores que en abstracto con más frecuentemente señalados por los especialistas como responsables del actual deterioro ambiental, figuran los siguientes:

- a.** El crecimiento demográfico
- b.** El intenso proceso de la concentración urbana, y en especial el fenómeno de la metropolización.
- c.** Los cambios experimentados en la naturaleza, cuyos efectos se ha vuelto cada vez más potentes, expansivos y acumulativos. Sobre todo a partir de uso de materiales radioactivos e insecticidas sintéticos orgánicos, así como la continua introducción de nuevas sustancias químicas que se vierten o liberan en el aire, agua y suelo, en volúmenes que rebasan la capacidad de aprovechamiento y realización y de productos sintéticos renuentes o resistentes a convertirse en material participante en los ciclos bioquímicos y geológicos y que se transfieren sus efectos de un medio a otro, se difunden a grandes distancias y crean acumulaciones progresivas.
- d.** El fracaso del hombre en el dominio racional de las fuerzas naturales de la tecnología de que ahora se dispone y, por ende,

su incapacidad para utilizarlas constructivamente sin dañar la biosfera (Encinas. Et al., 2011).

2.3.3. Suelos contaminados

El suelo es el soporte físico sobre el que se desarrollan las plantas y animales. Su contaminación puede repercutir sobre la cadena alimentaria y sobre la contaminación de las aguas.

El suelo contaminado es aquel cuya calidad ha sido alterada como consecuencia del vertido directo o indirecto de residuos o productos tóxicos y peligrosos. El resultado del vertido es la presencia de alguna sustancia en unas concentraciones tales que confieren al suelo propiedades nocivas, insalubres, molestas o peligrosas para algún fin (Encinas. Et al., 2011)

2.3.4. Plomo en suelos

El plomo existe naturalmente en el suelo. Debido a las actividades humanas, el suelo en las zonas urbanas y residenciales a veces tiene niveles de plomo elevados. El nivel de plomo en el suelo a menudo es alto cerca de las fábricas, ya estén en funcionamiento o abandonadas. Hasta la década de los 50, los productores de frutas usaban pesticidas que contenían arseniato de plomo; por eso el suelo en los huertos abandonados puede tener una concentración alta de plomo. El plomo también puede resultar del uso de pinturas o gasolina con plomo.

El plomo se acumula cerca de la superficie del suelo en las primeras dos pulgadas a menos que la excavación o labranza haya mezclado el suelo.

El plomo que se pega a las partículas finas de suelo puede ser transferido a la piel o la ropa, se pega a las partículas de polvo transportadas por el aire también puede llegar a partes más profundas del suelo por filtración y así contaminar aguas subterráneas (De la Peña. Et al., 2014).

2.3.5. Fitorremediación

El término fitorremediación hace referencia a una serie de tecnologías que se basan en el uso de plantas para limpiar o restaurar ambientes contaminados, como aguas, suelos, e incluso aire. Es un término relativamente nuevo, acuñado en 1991. Se compone de dos palabras, fito, ta, que en griego significa planta o vegetal, y remediar (del latín remediare), que significa poner remedio al daño, o corregir o enmendar algo. Fitorremediación significa remediar un daño por medio de plantas o vegetales.

De manera más completa, la fitorremediación puede definirse como una tecnología sustentable que se basa en el uso de plantas para reducir in situ la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de suelos, sedimentos, agua, y aire, a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a su sistema de raíz que conducen a la reducción, mineralización, degradación, volatilización y estabilización de los diversos tipos de contaminantes. En los últimos años se ha generado una terminología nueva basada en el papel que tienen las plantas durante el proceso de remediación, así como de los principales mecanismos involucrados, de forma que se han definido las siguientes estrategias de fitorremediación (Bayón. Et al., 2015):

- Fitodegradación o fitotransformación
- Fitoestimulación
- Fitovolatilización
- Fitoestabilización
- Fitoextracción o fitoacumulación
- Rizofiltración

2.3.6. Fitoextracción inducida

Las plantas acumuladoras y no hiperacumuladoras pueden absorber metales pesados contaminantes por las raíces, hojas, estomas, pero

existen inconvenientes en este enfoque incluyendo la reducción significativa de la biomasa de la respectiva planta y la incapacidad del mecanismo natural a absorber fracciones insolubles de metales pesados en el suelo.

Para superar este obstáculo y asegurarse de que la biomasa de la planta no disminuya por altas concentraciones de consumo de metal pesado, diferentes mecanismos de fitoextracción inducida son usadas para asistir a la planta con respecto al consumo de metal. Uno de ellos es el uso de queladores los cuales su función básica es incrementar la capacidad de consumo de metales pesados de la planta; también se encuentra la fertilización nitrogenada el cual incrementa la biomasa y mejora la extracción del metal (Ali. Et al., 2013).

2.4. Marco teórico

2.4.1. La Contaminación ambiental

Es la introducción o presencia de sustancias, organismos o formas de energía en ambientes o sustratos a los que no pertenecen o en cantidades superiores a las propias de dichos sustratos los cuales pueden causar algún daño o desequilibrio (irreversible o no) por un tiempo suficiente, y bajo condiciones tales, que esas sustancias interfieren con la salud y la comodidad de las personas, dañan los recursos naturales o alteran el equilibrio ecológico de la zona (Encinas. Et al., 2014).

Otra definición es simplemente la acumulación indeseable de sustancias, organismos o formas de energía en un sustrato; un ejemplo de contaminación es la presencia de bióxido de carbono en el aire en concentraciones que excedan a las naturales. Por lo tanto para que se considere que hay contaminación, se debe tomar en cuenta que esta depende del lugar, el tiempo, el tipo de contaminantes y la cantidad en que éste se encuentre y hasta cierto

punto también la situación específica y/o la percepción subjetiva (Delgadillo. Et al., 2011)

2.4.1.1. Origen de la contaminación

Conforme a la primera ley De la Termodinámica sobre que la materia y la energía no se crean ni se destruyen, solo se transforman por lo que se mantienen en equilibrio en un sistema, cualquier forma o cantidad de materia o energía que entre en una ciudad, río u organismo deberá salir tarde o temprano, si esto no ocurriera la materia u energía que se encuentra en exceso se acumulará y dará origen a la contaminación, por ejemplo cuando se explotan los depósitos naturales de un metal, este y sus impurezas entraran al ambiente y debido a que se considera al mundo como un sistema cerrado es evidente que alterará los compartimentos ambientales dependiendo en cual se acumule (Bustíos. Et al., 2013).

Existen dos tipos de origen de contaminación una de ellas es de origen antropogénica generada por actividades humanas y la contaminación de origen geogénica que proceden de roca madre, de actividad volcánica, o de la lixiviación de mineralizaciones, sin embargo en términos generales, la contaminación de origen natural nunca es tan grave como la de origen antropogénico (Encinas. Et al., 2011).

2.4.1.2. Causas de la contaminación

Las causas principales de la contaminación son las actividades originadas por el hombre como se mencionó en el apartado anterior. Son las relacionadas con la generación de energía artificial, incluyendo la explotación de los recursos naturales no renovables, como el petróleo o los diversos minerales, la industria en general y sus avances, la agricultura, la minería, sin embargo existen

otras causas que son las actividades no productivas, como las que se realizan dentro del hogar o las asociadas con el transporte o los servicios. La contaminación también puede ser causa del crecimiento demográfico, los movimientos migratorios, la urbanización y el uso de sustancias sintéticas en el hogar (Bustíos. Et al., 2013).

2.4.1.3. Clases de contaminación

- **Contaminación biológica:** Se da cuando un microorganismo se encuentra en un sustrato al que no pertenece o bien a uno al que pertenece pero en concentraciones que excedan a las naturales del mismo sustrato (Encinas. Et al., 2011). Comúnmente se debe a la deficiencia en los servicios de saneamiento básico como drenajes y sistemas de tratamiento de aguas o un bajo nivel de educación o hábitos higiénicos incorrectos.
- **Contaminación física:** Es la alteración de un compartimento por la presencia del ruido, contaminación térmica (calor), ruido y radiaciones ionizantes; sus efectos son muertes de animales y plantas por estrés, efecto siconeurologicos, mutaciones, cáncer y otros igualmente graves (Encinas. Et al., 2011).
- **Contaminación química:** Es la incorporación de sustancias creadas por el acelerado desarrollo tecnológico y la industrialización de los países que hasta algunos años atrás la principal actividad era agrícola; la contaminación química es a la entrada y creación de numerosas sustancias de origen sintético, la movilización, uso de sustancias y elementos naturales como los metales pesados o el petróleo que los seres humanos extraen de yacimientos y que al incorporarse a los ciclos biogeoquímicos desequilibran el ecosistema (Encinas. Et al., 2011).

2.4.1.4. Tipos de contaminación

- Contaminación del agua
- Contaminación del aire
- Contaminación del suelo
- Contaminación lumínica
- Contaminación sonora
- Contaminación visual (Encinas. Et al., 2011).

2.4.2. La contaminación ambiental en el Perú

De acuerdo a la Revista Peruana de Epidemiología, en América Latina y el Caribe, la pobreza, la inequidad social y la urbanización desordenada, la fragmentación de estructuras familiares y comunitarias contribuyen a un ambiente poco saludable, además el crecimiento acelerado y desordenado del sector industrial causa directamente la contaminación biológica, física y química; provoca aumentos en el transporte y el consumo de energía, genera más desechos y hace más difícil el manejo y disposición de los mismos. Los procesos de producción (explotaciones mineras, petroleras y agrícolas modernas, los hospitales, centros de salud, laboratorio, plantas de energía, la industria manufacturera y el narcotráfico) son los mayores generadores de desechos químicos, físico y residuos peligrosos. Un problema serio es el de las comunidades rurales donde los pobres están más expuestos a riesgos de salud, sobre todo aquellos que viven en zonas endémicas de enfermedades transmitidas por vectores (Bustíos, et al., 2013).

En la actualidad, la degradación ambiental en el Perú afecta enormemente la salud y la productividad de la población, especialmente la que vive en situación de pobreza, y amenaza el bienestar de las generaciones actuales y de las futuras. La degradación tiene causas antropogénicas y naturales, de las cuales sus efectos son las malas prácticas y las malas condiciones de higiene, la baja calidad de las instalaciones de agua y saneamiento, la creciente polución del aire urbano, la alta vulnerabilidad a los desastres naturales, la exposición ante gases tóxicos, la

contaminación intradomiciliaria por humos, la degradación de los suelos, la deforestación y el inadecuado manejo de los desechos sólidos. Por otro lado, los costos económicos de la degradación ambiental en el Perú alcanzan un monto de alrededor de 8 500 millones de nuevos soles anuales, es decir, aproximadamente 4% del PBI, y se debe sobre todo al aumento de la mortalidad y la morbilidad, a la disminución de la productividad y a la degradación del suelo y de la infraestructura (Bustíos, et al., 2013).

Las causas de la degradación ambiental en el país ordenadas de acuerdo al costo son las siguientes (Bustíos, et al., 2013):

- Contaminación del agua de bebida y enfermedades transmitidas por agua contaminada.
- Contaminación atmosférica urbana.
- Desastres naturales.
- Exposición a emanaciones urbanas de plomo, de origen diverso.
- Contaminación intradomiciliaria, sobre todo en zonas rurales.
- Degradación del suelo, sobre todo en las laderas orientales de la sierra.
- Deforestación, sobre todo en las selvas tropicales.
- Recogida inadecuada de residuos municipales.

2.4.2.1. El problema de la contaminación de suelos en el Perú

Unos de los principales contaminantes de suelo son las deudas que una empresa tiene por daños ambientales que no fueron remediados oportunamente y siguen causando efectos negativos y las continuas liberaciones de residuos de las mismas y otras industrias y/o actividades.

Las actividades que han generado estos pasivos son la minería, la industria manufacturera, la extracción de hidrocarburos, la agricultura y los residuos minerales y municipales, que al pasar de los años a través de diferentes procesos bioquímicos siguen alterando sistemas ambientales y expandiéndose de manera incontrolable.

El Fondo Nacional del Ambiente y la Propiedad reporta que existen 2 113 pasivos ambientales mineros, de los cuales 233 están abandonados y 1880 están inactivos (Revista Peruana de Epidemiología, 2013).

Los niveles de desertificación y degradación de la tierra son elevados, lo cual compromete el 27 % del total de la superficie del territorio nacional que significa un total de 34 384796 ha. Este total se distribuye en 3 862 786 ha (3% de la superficies del total de país) desertificadas y 30 522 010 ha (24% la superficie total del país) en proceso de desertificación. De continuar con este ritmo al año 2100, el 64% del territorio peruano estará afectando por procesos de esta naturaleza lo que abarcará la Costa y Sierra del Perú que constituyen el 38 % del territorio nacional donde se asienta el 88% de la población y se desarrollan actividades agrarias que generan el 9% del PBI, 30% del PEA, el 9% de las exportaciones y casi la totalidad de actividades mineras e industriales (Agenda Nacional de Acción Ambiental 2013-2014).

La cumbre mundial sobre el desarrollo sostenible, Johannesburgo 2002, Sudáfrica reconoció la degradación de la tierra como un problema ambiental serio y su manejo sostenible como uno de los retos más importantes para la producción de alimentos, el abastecimiento y conservador de agua del siglo 21.

2.4.3. La contaminación de suelos

El suelo se forma por la interacción de los sistemas atmósfera, hidrosfera y biosfera sobre la superficie de la geosfera. Ocupa la interfase entre la geosfera y los demás sistemas, en la llamada Zona Crítica (De la Peña. Et al., 2014), la parte más dinámica de la superficie de la Tierra. La meteorización química y mecánica de las rocas y la influencia de ciertos procesos microbiológicos producen el suelo. La presencia en los suelos de concentraciones nocivas de

algunos elementos químicos y compuestos (contaminantes) es un tipo especial de degradación que se denomina contaminación.

El contaminante está siempre en concentraciones mayores de las habituales (anomalías) y en general tiene un efecto adverso sobre algunos organismos. Por su origen puede ser geogénico o antropogénico. (De la Peña. Et al., 2014). Los contaminantes pueden abandonar un suelo por volatilización, disolución, lixiviado o erosión, y pasar a los organismos cuando pueden ser asimilables (bioasimilables), lo que normalmente ocurre cuando se encuentran en forma más o menos soluble. En concreto, la posibilidad de que un elemento (contaminante o no) quede libre y pase a disolución en un suelo se llama disponibilidad.

La biodisponibilidad sería el grado de libertad en que se encuentra un elemento o compuesto de una fuente potencial para ser capturado por un organismo (ingerido o adsorbido) (Segovia. Et al., 2014). Normalmente sólo una fracción pequeña de una sustancia potencialmente contaminante de un medio es biodisponible. Su efecto suele ser negativo, pero también puede ser indiferente para un organismo específico.

2.4.3.1. Efecto de los contaminantes en el suelo:

El suelo puede degradarse al acumularse en él sustancias a unos niveles que repercuten negativamente en el comportamiento de los suelos (Bonilla. Et a., 2013). Los efectos desfavorables son:

- Destrucción del poder de autodepuración por procesos biológicos normales.
- Disminución del rendimiento de los cultivos con posibles cambios en la composición de los productos con riesgo para la salud de los consumidores al entrar determinados elementos en la cadena trófica.
- Contaminación de aguas superficiales y freáticas por procesos de transferencia.

- Disminución de funciones de soporte de actividades de esparcimiento.

2.4.3.2. Fuentes de contaminación

La contaminación de los suelos es provocada por diversas actividades antropogénicas (Encinas. Et al., 2011), tales como:

- Mineras
- Explotación de petróleo
- Actividades industriales
- Actividades agrícolas
- Uso de aguas residuales en irrigación de campos agrícolas
- Basureros a cielo abierto
- Metales pesados

2.4.4. Metales pesados como contaminantes ambientales

Las principales sustancias que se consideran causantes principales de problemas de contaminación son los metales (plomo, cadmio, cromo, cobalto, níquel, cobre, zinc, arsénico, molibdeno, mercurio), compuestos inorgánicos, aromáticos y poliaromáticos, hidrocarburos clorados y agroquímicos (Yulieth. Et al., 2016)

Los metales pesados constituyen un grupo de 65 elementos con una densidad mayor de 5g/cm³ y poseen diversas características físicas, químicas y biológicas (Marrero, et al., 2012). Dentro de los metales pesados hay dos grupos: Oligoelementos o micronutrientes, son elementos esenciales, requeridos en pequeñas cantidades traza por animales y plantas y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Si se exceden sus concentraciones requeridas se vuelven tóxicos (Delgadillo. Et al., 2011) Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se y Zn ; y metales pesados sin función biológica, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva disfunciones en los organismos, resultan altamente tóxicos y presentan propiedad

de acumularse en los seres vivos y son: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Sb, Bi (Sarwar, et al., 2016). Los metales pesados incorporados al suelo pueden pasar a las aguas superficiales o subterráneas a la atmosfera por la volatilización, a las cadenas tróficas al ser absorbidos por las plantas o quedar retenidos lo que representa una amenaza biológica para los seres vivos. Los procesos de bioacumulación se deben básicamente a la imposibilidad del organismo afectado de mantener los niveles necesarios de excreción del contaminante, por lo que sufre una retención en el interior del mismo. Una vez incorporados a los tejidos, los metales son capaces de reaccionar con una gran variedad de sustancias (Sarwar, et al., 2016). Sus efectos tóxicos específicos sobre un sistema biológico dependen de reacciones con ligandos que son esenciales para la función normal de ese sistema. Por otra parte, los metales pesados no pueden ser destruidos, no es posible un cambio en su estructura nuclear del elemento, solamente es transformado de un estado de oxidación o complejo orgánico a otro. Como consecuencia de estos cambios el metal puede: eliminarse por lixiviación, ser menos tóxico, ser volatilizado o aislado a partir del área contaminada (Valdes, et al 2008). Las altas concentraciones de metales pesados en el suelo pueden provocar cambios evolutivos, debido a sus efectos dañinos (Marrero, et al., 2012).

2.4.4.1. Fuentes naturales de metales pesados:

La geodisponibilidad de un elemento químico o compuesto químico de un material terrestre es aquella porción de su contenido que puede liberarse a la superficie o cerca de la superficie (biosfera) por procesos físicos, químicos o biológicos (Ali. Et al., 2013).

Por tanto, los metales pesados geodisponibles son los que pasan de la roca madre a los suelos tras ser liberados por meteorización, y constituyen, junto a otros procedentes de emisiones volcánicas y lixiviados de mineralizaciones, los

denominados como geogénicos (Ali. Et al., 2013). Del total de la corteza terrestre, el 95% está hecho de rocas ígneas y acerca del 5% de roca sedimentaria. El precedente, roca ígnea basáltica la cual contiene metales pesados como el Co, Cd, Zn, Cu y el Ni, generalmente en altas concentraciones y la última el esquisto derivado de finos sedimentos de origen orgánico e inorgánico tiene altas cantidades de metales Zn, Cu, Mn, Cd y Pb. Generalmente estos metales pesados existen en más altas cantidades en suelos como los carbonatos, sulfuros, óxidos o sales. (Sarwar, et al., 2016).

2.4.4.2. Fuentes antropogénicas

Los recientes avances en la industria y el sector de la agricultura contribuyeron mucho en la contaminación elevada de los metales pesados en suelos y recursos hídricos. Las actividades de la minería y la fundición son fuentes importantes de metales pesados en los ecosistemas agronómicos. El uso de sustancias conteniendo biosólidos contaminados con metales y pesticidas también juega un papel importante en este escenario (Czarnecki and Düring, 2015). Para una producción de cultivo sustentable, algunos metales especialmente el Zinc con otros fertilizadores de fosfato los cuales contienen Zn y Cd tienden a ser aplicados en el suelo o en spray foliar sobre las hojas de las plantas como micronutriente esencial, para la plaga de insectos y control de enfermedades, diferentes químicos como insecticidas, fungicidas, y herbicidas son aplicados en gran escala como una fuente importante de elementos como Cu, As, Zn, Pb y Fe (Salazar. Et al., 2014). El grado de contaminación de suelos con metales pesados depende también del tipo de irrigación que se le dé. El agua fresca no contaminada es una fuente que contribuye niveles muy bajos de contaminación mientras que la

aplicación de aguas residuales y aguas residuales industriales puede ser una fuente de ingreso considerable de metales pesados.

Emisiones de depósitos húmedos y secos de diferentes fuentes incluyendo la industria del metal, fundidoras de metal, refinerías de metal, fundidoras e industrias de cemento tienen también una gran contribución a la acumulación de metal en suelos, a todo esto agregando el uso de combustible por automóviles, los cuales son responsables de la acumulación de Pb en los suelos que se encuentran cerca a las carreteras (Sarwar, et al., 2016).

2.4.4.3. Efectos de los metales pesados en la salud humana

Un número de problemas de salud son causados por la toxicidad de los metales en el hombre dependiendo de su concentración y su estado de oxidación, a continuación se dará un breve resumen de los riesgos en la salud que producen (Gosh. Et al, 2010).

- **Cadmio:** es bien conocido como mutagénico y carcinógeno, altera el metabolismo del calcio en el cuerpo, produce fallas en el riñón y anemia severa.
- **Zinc:** una alta concentración puede causar fatiga mareos.
- **Plomo:** la toxicidad del plomo podría resultar en fallas renales, enfermedades cardiovasculares, causa la reducción de la inteligencia, pérdida de memoria y problemas de coordinación.
- **Cromo:** causa rápida caída del cabello
- **Níquel:** Inhalación puede causar cáncer de pulmón, cáncer de garganta y cáncer de estómago.
- **Arsénico:** Irritación de estómago e intestino, irritación de pulmones, lesiones de piel, diabetes, infertilidad y

aborto en mujeres, daño al cerebro y posibilidades de cáncer (Burger, et al., 2010).

2.4.5. El Plomo

El plomo (Pb) es un metal pesado de color blanco azulado, con tendencia al gris plateado, de alta densidad (11.35 g/cm³). Su número atómico es 207.2, su punto de fusión es 327.4 °C y el de ebullición es 1 740 °C. Insoluble en agua, resistente a la acción del ácido sulfúrico, se disuelve lentamente en soluciones de agua acidificada con ácidos débiles como el ácido nítrico y en soluciones del mismo ácido, dando lugar a sales solubles. En estado puro es blando y maleable, poco dúctil y mal conductor de la electricidad.

El plomo se encuentra en forma natural en la corteza terrestre de un modo relativamente abundante y como muchos metales. (Gadd. Et al., 2010).

El Plomo fue uno de los primeros metales extraídos por el hombre, este metal se produce primariamente por fundición del mineral.

Los principales yacimientos de éste están en Australia, Canadá, Estados Unidos, y Unión Soviética. La producción mundial minera es de aproximadamente 3.300.000 ton/año; en América Latina se produce el 14% de este total, siendo los más importantes productores Perú (212.600 ton/año) y México (184.261 ton/año) (Danza et al., 2010).

2.4.5.1. Uso del Plomo en la industria

La ductilidad única del plomo lo hace apropiado para el uso industrial, porque puede estirarse para formar un forro continuo alrededor de conductores eléctricos internos. El 40 % de plomo se usa en forma metálica, el 25 % en aleaciones y el 35 % en compuestos químicos. El plomo inorgánico se presenta bajo las formas de diversos compuestos, es usado en numerosos tipos de industrias y actividades, cuya magnitud exacta es desconocida en América Latina y el Caribe, las más importantes son las

industrias de baterías, metalúrgica, pigmentos para pinturas, alfarería, fabricación de cristales, soldadura de latas, cables y productos químicos.

El uso del plomo en pigmentos ha sido muy importante, el pigmento que se utiliza más, en el que interviene este elemento, es el blanco de plomo $2PbCO_3Pb(OH)_2$; otros pigmentos importantes son el sulfato básico de plomo y los cromatos de plomo (Aldoobie and Beltagi, et al., 2013), el litargirio (óxido de plomo) se emplea mucho para mejorar las propiedades magnéticas de los imanes de cerámica de ferrita de bario. Asimismo, una mezcla calcinada de Zirconato de plomo y de Titanato de plomo, conocida como PZT, está ampliando su mercado como un material piezoeléctrico (Aldoobie and Beltagi, et al., 2013). Se utilizan una gran variedad de compuestos de plomo, como los silicatos, los carbonatos y sales de ácidos orgánicos, como estabilizadores contra el calor y la luz para los plásticos de cloruro de polivinilo; y el plomo orgánico se presenta como tetraetilo de plomo que se usa en nuestro país extensivamente como antidetonante en la nafta, habiendo sido eliminado como tal en la mayoría de los países desarrollados (Aldoobie and Beltagi, et al., 2013). El tetraetilo de plomo principal aditivo de la gasolina el cual es parte de su composición, y de las diversas emisiones de procesos industriales donde intervienen compuestos de plomo como por ejemplo la combustión de carburantes fósiles, como el carbón, el Azuro de plomo, $Pb(N_3)_2$, que es el detonador estándar para los explosivos, los Arsenatos de plomo, los cuales se emplean en grandes cantidades como insecticidas para la protección de los cultivos; en conclusión las fuentes ambientales antropogénicas son responsables de la creciente carga de Pb en la gente (García - Leston. Et al., 2012).

2.4.5.2. Fuentes del plomo

El plomo en su forma natural como fuente de contaminación tiene muy poca importancia; por el contrario las fuentes antropogénicas por su potencial contaminador y la cantidad elevada de emisión hizo que la OMS y la Food and Drug Administration (F.D.A) presente su preocupación y ajuste la ingestión total tolerable recomendable de plomo en humanos (Bonilla. Et al., 2013).

a. Fuentes naturales de plomo: El plomo se encuentra en forma natural en la corteza terrestre en un promedio de 16 mg/kg; la presencia de plomo natural en compartimentos ambientales se debe a la erosión de los suelos y a la actividad volcánica y son lavados en arroyos y a la larga se depositan con los sedimentos en los ríos, lagos y océanos, otra fuente de plomo en la atmósfera, es el plomo depositado de las expulsiones de la lava meteórica (Gadd. Et a., 2010).

b. Fuentes antropogénicas de plomo: Después de las actividades de minería, la principal fuente antropogénica de plomo es la industria.

2.4.5.3. Contaminación de suelos por Plomo

En general, la contaminación de suelos por Pb puede seguir cuatro diferentes vías: la primera, quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo u ocupando sitios de intercambio; segunda, específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo; tercera, asociados con la materia orgánica del suelo y cuarta, precipitados como sólidos puros o mixtos. Por otra parte, pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; pueden pasar a la

atmósfera por volatilización y pueden ser movilizados a las aguas superficiales o subterráneas.

En los suelos contaminados con Pb se suele encontrar también Cd y Zn por analogía entre sus propiedades y características metálicas algo similar a lo que ocurre para la triada de Fe-Ni-Co. En estos casos la barrera suelo-planta limita el traslado de Pb a la cadena alimenticia, ya sea por procesos de inmovilización química en el suelo según se ha reportado o limitando el crecimiento de la planta antes de que el Pb absorbido alcance valores que puedan ser dañinos al ser humano, en suelos inhibe los procesos microbianos y acumulándose en la microflora, flora y fauna edáfica.

2.4.5.4. Los efectos del plomo en la salud humana:

El plomo no tiene una función biológica útil en el ser humano a pesar de estar presente en la dieta y en el ambiente humano. Se ingieren unos 200 a 300 ug diarios sin que ello cause daño conocido (F. Danza et al., 2010). El plomo puede penetrar en el organismo por tres vías: respiratoria, digestiva y cutánea (Bonilla. Et al, 2013). El plomo que atraviesa la piel pasa a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente circulatorio. En la especie humana la absorción de plomo por vía inhalatoria es mínima en comparación con la vía digestiva. En el caso de penetrar por vía respiratoria se combina con proteínas o con el CO₂ espirado, formándose PbCO₃ soluble. Por vía respiratoria, la más importante en el medio laboral, se llega a absorber el 40 % del plomo. Parte de este Pb se fija en la saliva y se traga. Por todo lo cual la vía respiratoria está considerada como la más peligrosa. Respecto a la absorción digestiva, mientras los adultos absorben el 10%, los niños absorben

hasta el 50% del Pb ingerido. Por otra parte, los niños tienden a retener mayor concentración del plomo absorbido que los adultos, en porcentaje se puede cuantificar respectivamente en un 30% y 5%. Cualquier vía de ingestión de plomo tiene su punto final en el hígado, el cual metaboliza los compuestos que a él llegan, eliminando una parte por la bilis. Cuando existe una insuficiencia hepática o la concentración del metal es excesiva se elimina por el sudor, la saliva, el páncreas y por la orina, pasado un cierto nivel, comienza a acumularse y un 20% se aloja en los riñones por ello se puede presentar el síndrome de Fanconi con una aminoaciduria, glucosuria, hipofosfaturia e hipofosfatemia provocadas por lesión tubular renal (Wu. Et al., 2012)

Las manifestaciones de la intoxicación crónica por plomo son muy variadas, incluyendo alteraciones orales como el Ribete de Burton, manifestaciones gastrointestinales, alteraciones hematológicas (anemia microcítica-hipocrómica), parálisis motoras, encefalopatía, alteraciones renales y cólicos saturninos. Confirmando diferentes estudios epidemiológicos la existencia de una correlación entre niveles de plomo en sangre y cifras aumentadas de tensión arterial. Además, es bien conocido que la intoxicación por plomo conduce a anemia. Los principales efectos tóxicos del plomo originan daños sobre el tracto gastrointestinal (“Cólico Saturnino”), nefropatías y daños sobre el SNC y periférico (Martínez. Et al., 2013). El plomo afecta al sistema reproductor humano, tanto masculino como femenino y además la exposición al plomo es especialmente peligrosa para el neonato, ya que una exposición a este metal de la mujer embarazada puede dar lugar a un nacimiento prematuro, a niños con bajo peso al nacer, e incluso a abortos (Martínez. Et al., 2013).

2.4.6. Tecnologías biológicas

Las tecnologías biológicas involucran el uso de microorganismos y plantas para remover, contener o retener contaminantes ambientales si causar daño (Dixit. Et al., 2015). Las tecnologías biológicas se han utilizado para el tratamiento de varios tipos de contaminantes del suelo y del agua, como: hidrocarburos, plaguicidas, sustancias radiactivas y otro tipo de contaminantes orgánicos; sin embargo, su uso en la remediación de suelos contaminados con metales pesados y metaloides, es de reciente aplicación (Dixit. Et al., 2015). Las alternativas biológicas son aplicables cuando los contaminantes se encuentran cerca de la superficie y no son lixiviables, o cuando la remoción de los contaminantes no es una situación de emergencia, o bien, si se requiere de disminuir el riesgo, ya que puede cubrir extensas áreas (Dixit. Et al., 2015). Sin embargo, para alcanzar el éxito debe realizarse la selección de especies microbianas adaptadas a las condiciones de contaminación.

2.4.7. La biorremediación

Es el procedimiento natural que consiste en el empleo de sistemas biológicos capaces de eliminar los contaminantes orgánicos e inorgánicos de un determinado medio dada su capacidad de utilizar compuestos presentes en su entorno y transformarlos en precursores de sus constituyentes celulares; consiste en usar organismos (hongos, bacterias, plantas y otras especies vivas) para acelerar la tasa de degradación natural de los contaminantes para descomponerlas o degradarlas en sustancia menos tóxicas o no tóxicas obteniendo un suelo útil para la agricultura por el uso de nutrientes.

La EPA define la biorremediación como la manipulación de sistemas biológicos para efectuar cambios en el ambiente. La Biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el diseño de

microorganismos capaces de degradar compuestos que provocan desequilibrios en el medio ambiente (Bonilla. Et al., 2013).

El proceso de biorremediación dependiendo del medio que se utilice para la descontaminación del suelo puede clasificarse en:

- **Fitorremediación:** uso de plantas verdes para remover, obtener o neutralizar compuestos orgánicos y metales pesados.
- **Biorremediación:** uso de animales que tienen la capacidad de desarrollarse en medios altamente contaminados.
- **Biorremediación microbiana:** uso de bacterias acumuladoras como hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos.

2.4.8. La fitorremediación

Los avances tecnológicos para sanear ambientes contaminados por metales tóxicos han conducido al desarrollo de alternativas que se basan en el empleo de organismos vivos para prevenir o restaurar daños provocados por acciones antropogénicas que alteran la estabilidad de los diferentes ecosistemas. En ese sentido se resalta la fitorremediación que es una de las vertientes de la biorremediación que puede considerarse una tecnología alternativa rentable y sostenible (Delgadillo. Et al., 2011).

La fitorremediación viene del termino griego (phyto) que significa planta y remediación del termino griego (remedium) que significa limpieza. Como el termino indica es un proceso de limpieza de un área contaminada mediante el uso de plantas (Greispsson et al., 2011). Esta técnica puede ser usada para la remediación de contaminantes orgánicos e inorgánicos los cuales pueden ser encontrados en suelos, sedimentos, aguas superficiales y subterráneas; puede ser económicamente factible y eficiente, estos contaminantes abarcan los metales pesados, los metaloides, los agroquímicos, los radionucleoides, sales, los agroquímicos, hidrocarburos, los compuestos organoclorados y las aguas residuales (Ali et al., 2013).

2.4.8.1. Participación de las plantas y microorganismos en la fitorremediación.

2.4.8.1.1. Plantas

Para una fitorrecuperación exitosa se prefiere el uso de plantas tolerantes, las plantas se utilizan como sistemas directos o indirectos de descontaminación. Las plantas participan en la modificación del contaminante a través de la absorción, retiro o acumulación. Las plantas con el potencial de fitorremediación tienen la habilidad de almacenar en sus células y órganos los metales. El proceso abarca múltiples pasos que involucran el consumo de metales del suelo a las raíces, de donde ellas los trasladan a los órganos aéreos de las plantas y son almacenados en las hojas (Mahmood, et al 2010). Existen tres procesos principales por los cuales las plantas trasladan los metales pesados a sus órganos como se muestra en la figura N° 1:

- i.** Biodisponibilidad y consumo de metales pesados a través de las raíces.
- ii.** Traslado de los metales pesados de las raíces a los brotes a través de la sobrecarga del xilema.
- iii.** El retiro de los metales pesados en hojas particularmente en vacuolas.

Durante estos procesos, el transporte de proteínas son involucradas lo que permite al metal pesado ser consumido y almacenado en la planta.

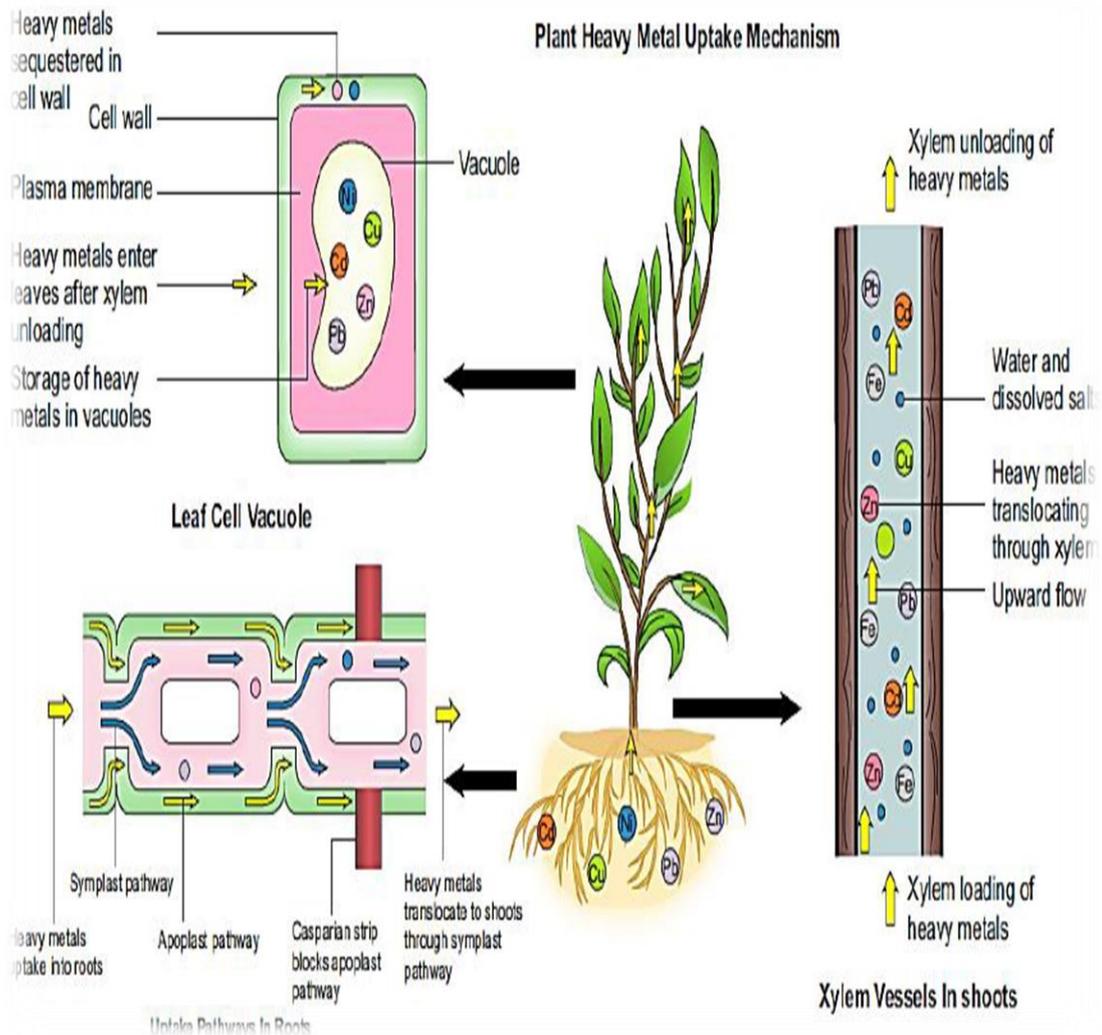


Figura N°1: Proceso de fitoextracción

Fuente: Interacción Planta-Metal, técnicas de remediación emergente.
(Greipsson, et al., 2011).

2.4.8.1.2. Microorganismos asociados a la raíz

La rizósfera es colonizada más intensivamente por microorganismos que otras regiones del suelo porque es una fuente rica de nutrientes (Egamberdieva, et al., 2009).

Estos microbios pueden ser benéficos, neutrales, o patógenos y competir por nutrientes y nichos bajo fuertes variaciones de condiciones. Beneficios de la bacteria de la rizósfera son dos tipos: formando una relación

simbiótica con la planta y la libre vivencia en el suelo y la raíz. El crecimiento de la planta y la promoción de la rizobacteria juegan un papel importante en producción de cultivos porque ellos:

- Estimulan el crecimiento de la raíz,
- Hacen disponibles los nutrientes del suelo para la raíz de la planta,
- Fijan nitrógeno del aire y mejoran la fertilidad del suelo.
- Suprime los patógenos y protege las plantas de diferentes enfermedades.
- Mejoran la tolerancia de la planta de varios estreses ambientales.

Microorganismos son capaces de sobrevivir condiciones extremas porque su potencial de actividad enzimática, les permite convertir componentes peligrosos a formas inofensivas (Ali et al., 2013).

Algunos microorganismos involucran diferentes mecanismos de resistencia para evitar la toxicidad del metal y pueda ser adaptado a vivir en la presencia de contaminantes de suelos (Pattanayak and Dhal, et al., 2014).

Los diversos microorganismos rizosféricos, que se asocian a las raíces de las plantas (bacterias, hongos, actinomicetes y cianobacterias), actúan sobre los contaminantes y promueven el crecimiento de las plantas, así incrementan la superficie aérea de la planta permitiendo más consumo de metal, ciertos compuestos producidos por los microorganismos han sido mostrados para promover el crecimiento de la

planta incluyendo la producción de sideroforos, fitohormonas, solubilidad de fosfatos, aminociclopropano, carboxilato y contienen varias enzimas que regulan el crecimiento de la planta y su producción a través de la movilización de nutrientes en el suelo, produciendo numerosos reguladores en el crecimiento de la planta, protegiendo a la planta de fitopatógenos por el control o inhibición de ellos, mejorando la estructura del suelo y biorremediación de suelos contaminados por el retiro de especies tóxicas de metales pesados y degradando compuesto xenobióticos (Upadhsay y Singh, et al., 2014).

La biodisponibilidad de metales pesados en la rizósfera es considerada ser un factor importante que determina la eficiencia del proceso de fitoextracción, los microbios de la rizósfera, con un alta habilidad de colonización y actividad enzimática, puede mejorar la solubilidad del metal y disponibilidad por la reducción del pH o la producción de quelantes y sideroforos (Prapagdee et al., 2013).

2.4.8.2. Mecanismos de fitorremediación:

Entre las diversas categorías de la fitorremediación destacan: la fitoextracción, la fitoestabilización, la rizofiltración y la fitovolatilización de acuerdo a la contaminación tratada como se observa en la figura N°2.

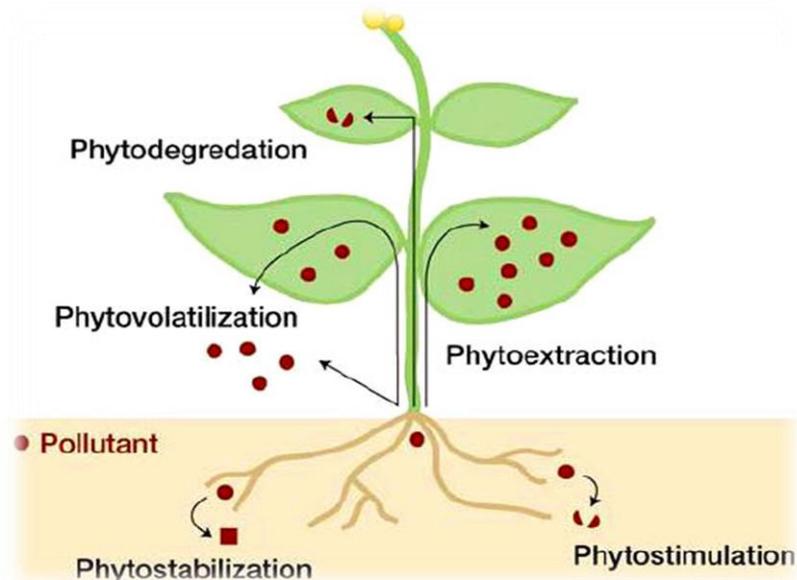


Figura N° 2: Mecanismos de fitorremediación

Fuente: Mas Science., 2017

2.4.8.2.1. Tipos de mecanismos de extracción:

a. Fitoextracción: Conocida también como bioacumulación, es la captación de metales contaminantes por las raíces de las plantas y su acumulación en raíces, tallos y hojas, algunas plantas consumen cantidades extraordinarias de metales en comparación con otras (Bonilla. Et al., 2013).

b. Fitoestabilización: La fitoestabilización o fitoinmovilización se refiere al uso de plantas que tiene la habilidad de disminuir la movilidad o y biodisponibilidad de un metal ya sea para prevenir el lixiviado a aguas subterráneas o a la entrada de la cadena alimenticia por ciertos mecanismos que incluyen la adsorción por las raíces,

precipitación, complejación en la zona de a raíz (Bonilla. Et al., 2013).

c. Fitodegradación: Las plantas y microorganismos asociados se pueden utilizar para degradar los agentes contaminantes del suelo. La Fitodegradación es un proceso mediante el cual las plantas degradan (descomponen) contaminantes orgánicos. En algunos casos, los contaminantes degradados en moléculas más simples se usan se usan para acelerar el crecimiento de las plantas (Bonilla. Et al., 2013).

d. Rizofiltración: Utilización de las raíces de las plantas para extraer los diferente contaminantes tóxicos o aceites que se puedan encontrar en aguas contaminadas ya sean superficiales o profundas. Se ha visto que está técnica puede ser mejorada insertando microorganismos simbióticos específicos en la rizósfera de la planta. La rizofiltración es similar a la fitoextracción, pero las plantas que se usan para la limpieza se cultivan en invernaderos con las raíces en agua en vez de tierra. Cuando las plantas tienen un sistema de raíces bien desarrollado, se recoge agua contaminada de un vertedero, se transporta hasta el lugar donde están las plantas y se colocan las plantas en esta agua. Las raíces absorben el agua junto con los contaminantes. A medida que las raíces se saturan de contaminantes, se cortan y se eliminan. Además de extraer metales del agua, la

rizofiltración puede ser útil para descargar industriales, escorrentía de tierras agrícolas, drenaje de minas de ácidos y contaminantes radioactivos (Bonilla. Et al., 2013).

e. Fitovolatilización: Es otro enfoque el cual involucra la conversión del metal en una forma volátil y esto se expulsa a la atmosfera a través de los estomas (Bonilla. Et al., 2013)

f. Fitoestimulación: Las raíces de las plantas son capaces de estimular microorganismos los cuales van a degradar los agentes contaminantes de la rizósfera.

g. Atenuación natural: Se ha comprobado que los ecosistemas y el suelo son entidades capaces de autorregularse y que reaccionan ante agresiones químicas de forma lenta, pero consiguen en ocasiones disminuir los riesgos asociados a la presencia de un elemento. Es una técnica consistente en monitorizar la contaminación y esperar a que la biocenosis y el biotopo inactiven la toxicidad del elemento traza. (Bonilla. Et al., 2013).

De los diferentes tipos de mecanismos de fitorremediación, la fitoextracción y la rizofiltración son las más importantes ya que se ocupan de la descontaminación de suelos que poseen metales pesados.

Los metales pesados como por ejemplo: el Zinc, el Plomo, Níquel, Cromo, etc., constituyen uno de los problemas de mayor dificultad para solucionar, eso es debido a su

naturaleza inorgánica ya que esta no es susceptible a biodegradarse.

En la siguiente tabla N°1 se explica de forma resumida el proceso involucrado en cada uno y la contaminación tratada:

Tipo	Proceso involucrado	Contaminación Tratada
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar metales en las partes cosechables (principalmente, la parte aérea)	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc.
Rizofiltración	Las raíces de las plantas se usan para absorber, precipitar y concentrar metales a partir de efluentes líquidos contaminados y degradar compuestos orgánicos.	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc, isótopos radiactivos, compuestos fenólicos
Fitoestabilización	Las plantas tolerantes a los metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje de napas subterráneas o al aire.	Lagunas de desechos de yacimientos mineros. Propuesto para fenólicos y compuestos clorados
Fitoestimulación	SE usan los exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos)	Hidrocarburos derivados del petróleo y poliaromáticos, benceno, tolueno, atrazina, etc.
Fitovolatilización	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano)
Fitodegradación	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	Municiones (TNT, DTN, RDX, nitrobenzenu, nitrotolueno), atrazina, solventes clorados, DDT, pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, etc.

Tabla N°1: Mecanismos de fitorremediación

Fuente: Fitorremediación, una alternativa para eliminar la contaminación

Delgadillo, et al., 2011

2.4.8.3. Ventajas y desventajas de la fitorremediación

La fitorremediación, por sí misma, muestra una serie de ventajas y limitaciones en comparación con otras tecnologías convencionales, las cuales se presentan a continuación. Las fitotecnologías son especialmente útiles para su aplicación en grandes superficies, con

contaminantes relativamente inmóviles o con niveles de contaminación moderadas, y deben considerarse procesos de recuperación a largo plazo. (Delgadillo, et al., 2011)

2.4.8.3.1. Ventajas:

- Tecnología sostenible
- Emplea técnicas, maquinaria y suministros conocidos en agricultura, resultando de fácil implementación y mantenimiento
- Poco perjudicial para el ambiente y no afecta negativamente a los suelos Adelanta los procesos de reinstauración de comunidades vegetales
- Es fácil monitorizar las plantas
- Versátil: es eficiente para diversos tipos de contaminantes, orgánicos e inorgánicos, pudiendo tratarse emplazamientos con varios de ellos
- Aplicable in situ lo que evita excavación y transporte del suelo y reduce el riesgo de dispersión de contaminantes (y de su contacto con personas y otros seres vivos)
- No obstante, también puede aplicarse ex situ
- Aceptable por el público y agradable estéticamente por la mejora del paisaje
- Útil para concentraciones de bajas a moderadas
- No produce contaminantes secundarios
- Evita o, al menos, reduce sustancialmente la necesidad de vertederos o depósitos de seguridad para desechar residuos
- Bajo consumo energético Además, utiliza energía solar

- Aplicable en grandes extensiones de terreno
- No es incompatible con otras tecnologías de recuperación más tradicionales, sino que puede ser complementaria, pudiendo emplearse como etapa final en procesos de restauración
- En ocasiones se pueden reciclar recursos (agua, biomasa, metales...) Cuando la biomasa no acumula tóxicos se puede aprovechar: como forraje, fibra, fuente de energía, para compostaje
- Puede utilizarse con carácter preventivo
- Bajo coste económico. (Delgadillo, et al., 2011)

2.4.8.3.2. Desventajas:

- Tecnología aún en proceso de desarrollo
Proceso lento: requerimientos de tiempo a veces muy largos, de años
- Limitada a la profundidad que pueden alcanzar las raíces (típicamente del orden de 0,5 m para herbáceas y de los 3 m para árboles)
- Dependencia de la eficacia de la recuperación con las estaciones y el clima
- La toxicidad del medio a veces limita el crecimiento de la vegetación
- La eficacia depende de la tolerancia de las plantas al conjunto de contaminantes presentes
- Requiere un estudio multidisciplinar que proporcione buen conocimiento del estado de los contaminantes, del suelo y las

influencias de los diversos vegetales y microorganismos que intervienen

- No universal. Cada tipo de planta tiene unos requerimientos para su desarrollo: temperaturas, precipitación, condiciones del suelo, geología, insolación, altitud
- Sustancias acumuladas en tejidos envejecidos pueden ser nuevamente liberadas al ambiente.
- Los contaminantes pueden acumularse en madera que se utilice como combustible, con riesgo de emisión de los mismos
- No elimina totalmente el riesgo de lixiviación de contaminantes hacia aguas subterráneas
- Existe riesgo de que los contaminantes sean consumidos por animales (p. ej., roedores) y entren en las cadenas tróficas
- Los contaminantes pueden, a través de las plantas, afectar a otros seres vivos del ecosistema. (Delgadillo, et al., 2011)

2.4.9. Plantas hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras

Como se mencionó anteriormente la fitorremediación usa plantas para absorber metales pesados. El término es también confundido con tolerancia.

Estudios de una trayectoria evolutiva sugieren que la tolerancia y la acumulación de metal son genéticamente de respuestas diferentes de plantas en contra del exceso de metal (Goolsby and Mason, et al., 2015).

2.4.9.1. Plantas hiperacumuladoras

Las plantas usadas para estos propósitos deben tener ciertas características que puedan ayudarlas a las

fitoextracción de metales pesados. Por ejemplo, ellas deberían tener una alta tasa crecimiento y alta producción de biomasa como tallos, hojas y raíces por tanto ese eficiente traslado de metales pesados a todas las partes pueda ser realizado. Ellas deberían también ser tolerantes a altas concentraciones de metales pesados tanto como adaptables a estreses bióticos y abióticos de este modo que puedan ser fácilmente cultivadas y cosechadas (Ali et al., 2013). Las plantas que tiene todas estas características y son capaces de tolerar y acumular altos niveles de metales pesados son llamadas hiperacumuladoras. Hiperacumuladores de metales pesados encontrados en el suelo tienen la capacidad de acumular altas cantidades de contaminantes sin tener ningún efecto físico obvio o síntoma que represente intoxicación.

La concentración de elementos traza como As, Zn, Ni, y el Cd en la hoja de los hiperacumuladores usualmente llega a ser 100 veces más alto que el que está contenido en el suelo, lo cual claramente indica una mayor eficiencia en la limpieza de suelos contaminados. Para absorber una gran cantidad de metales, es necesario para la planta sobrevivir en condiciones duras donde el suelo tiene abundantes metales pesados, porque la acumulación de metales pesados en plantas especialmente en esos órganos que pueden permitir el traslado de azúcares y minerales, ellos necesitan un ratio propio de mantenimiento entre las concentraciones de metales pesados particularmente en raíces y brotes. Esto es denominado Factor de Translocación (TF). Para hiperacumuladores, es necesario que el TF sea más grande que 1 (Tangahu et al., 2011), otro factor que mide el potencial de acumulación es el factor de bioconcentración (BC), el cual es el ratio entre las cantidades de metales pesados que han sido consumidos por la raíz y las que se presentan en el suelo. El BC

debería ser mayor que 1 para hiperacumuladores (Ahmadpour et al., 2014).

2.4.9.2. Plantas no hiperacumuladoras

Las no hiperacumuladoras o acumuladoras son esas especies de plantas que pueden acumular metales pesados en sus partes inferiores y no pueden trasladarlas a los brotes y hojas (Maestri. Et al., 2010).

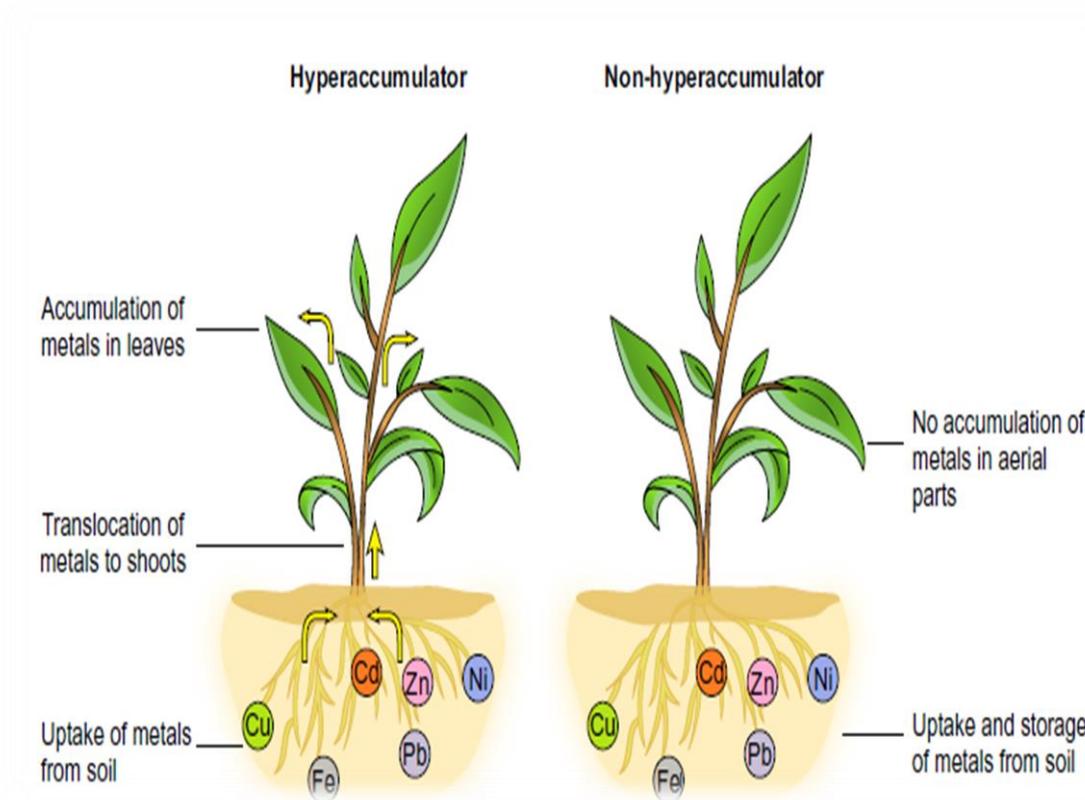


Figura N° 3: Diferencias entre un hiperacumulador y un no hiperacumulador.

Fuente: Fitoextracción; uso de plantas para remover metales pesados del suelo (Ahmadpour. Et al., 2014).

2.4.9.3. La *Brassica campestris* como Planta hiperacumuladora

Acerca de 450 a 500 plantas han sido identificadas como hiperacumuladoras, un ejemplo es la *Thalapi caerulescens* que puede acumular altas concentraciones de Zn y Cd (Mugica - Alvarez. Et al., 2015). El 45 % de hiperacumuladores pertenecen a la familia de

angiospermas, de eso el 25% de hiperacumuladores pertenece a la familia *Brassicaceae*, otras familias incluyen miembros de *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Cyperaceae*, *Poaceae*, *Cunoniaceae*, *Lamiaceae* y muchos otros. Estas familias de plantas pueden absorber altas cantidades de metales. (Mugica - Alvarez. Et al., 2015). La familia de la *Brassicaceae* se encuentra 11 géneros y 87 especies que han sido identificados por su potencial fitorremediador e hiperacumulador. La familia *Brassicaceae* comprende numerosas especies de variados usos para el hombre, como alimento fresco e industrializado, como plantas forrajeras, medicinales, ornamentales y fitorremediadoras, destacando los géneros *Bassica* y *Raphanus* como los más difundidos y utilizados. El consumo de las especies hortícolas de la familia, especialmente del género *Brassica*, ha ido aumentando en muchos países, al reconocérseles a dichos productos importantes efectos benéficos para la salud del ser humano y el medio ambiente, por ser ricos en fibra, provitamina A, vitamina C, antioxidantes. (United States Department of Agriculture, 2013). Otras características importantes de la *Brassica* es que son plantas colonizadoras a pesar de las condiciones extremas, producen una cantidad de biomasa independiente de la relación con el clima y las condiciones del suelo (Tlustos et al., 2006). Tienen la capacidad de absorber metales pesados e incorporarlos en algunos órganos sin perjudicarse.

Un estudio demostró la habilidad de la *Brassica rapa* como hiperacumulador para la fitoextracción.

2.4.9.3.1. Nombres comunes alternativos:

- Mostaza común
- Mostaza salvaje

2.4.9.3.2. Nombres científicos alternativos

- Brassica rapa L. var. Campestris
- Brassica campestris L. ssp. Rapifera
- Brassica campestris L. var. Rapa
- Napus var. Quadrivalvis.



Figura N° 4: La mostacilla, nombre científico *Brassica campestris*

Fuente: Dimitri, M.J. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. ACME S.A.C.I

2.4.10. Biodisponibilidad de metales pesados

El primer requerimiento para la acumulación de metal por plantas es la solubilidad del metal en la solución de suelo. Una planta no puede extraer un metal de suelo si el metal no está ligeramente menos soluble. La fracción soluble tiene que estar en una forma donde pueda ser consumido por las plantas. En la base de disponibilidad de metal para el consumo de plantas, fracciones de metal pueden estar en tres tipos, Disponibles, no disponibles y fracciones cambiables (Sheoran et al., 2015).

Se entiende por biodisponibilidad la fracción de metales pesados que están disponibles para la absorción de la planta. Metales que son biodisponibles están presentes en soluciones de suelo como

iones de metal libres y complejos de metal solubles, y también pueden ser adsorbidos a suelos como constituyentes inorgánicos a sitio de cambio de iones. Los metales no biodisponibles están presentes en diferentes fracciones como las fracciones químicamente ligadas a la materia orgánica, precipitado de óxidos, hidróxidos y carbonatos e incrustados en estructuras de minerales de silicatos y por lo tanto son muy difíciles de ser absorbidos por la planta.

La biodisponibilidad de metales en el suelo es controlada por muchos factores y procesos, los cuales pueden ser externos o internos (Sheoran et al., 2015).

2.4.10.1. Factores del suelo relacionados a la biodisponibilidad de metal

Los factores que afectan la concentración de los metales en la solución suelo afectan la biodisponibilidad, por lo tanto, ésta depende de la naturaleza del metal, su interacción con los coloides del suelo, las propiedades del suelo y el tiempo de contacto con el metal. Los factores del suelo que afectan la biodisponibilidad del metal son pH, potencial redox, contenido y tipo de arcillas, materia orgánica (Naidu et al., 2003).

a. Tipo de suelo: la biodisponibilidad de metales pesados en el suelo depende de la textura del suelo. Una gradiente de ion metal disponible existe varios tipos de suelo.

b. Humedad del suelo: mayor consumo de metal es observado en altos niveles de humedad del suelo. Plantas también producen mayores cantidades de biomasa en mayores niveles de humedad. Lo cual mejora la cantidad extraída de metal del suelo (Sheoran et al., 2015).

c. pH del suelo: el pH del suelo es un factor que mayor influencia tiene en la biodisponibilidad de metales en el suelo para el consumo de una planta. Usualmente, las

concentraciones de metales pesados en soluciones de suelo puede estar incrementado por la disminución del valor del pH del suelo porque la cantidad de H^+ incrementara y la capacidad cambiante entre los cationes del metal pesado y H^+ adsorbida en la superficie de las partículas del suelo incrementaran después de la disminución del pH. El pH del suelo no solo afecta la biodisponibilidad del metal, también el proceso de consumo de las raíces (Sheoran et al., 2015).

d. Potencial redox (Eh): el potencial redox del suelo es una medida de la tendencia de la solución de suelo a aceptar o donar electrones. Muchos metales existen en el ambiente en múltiples formas de redox. La movilidad de los contaminantes metálicos depende fuertemente del estado de oxidación (Sheoran et al., 2015).

e. Contenido de materia orgánica: la materia orgánica del suelo se compone de sustancia húmica y no húmicas siendo las sustancias húmicas los compuestos más estables del suelo (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas), además, tiene un número relativamente grande de grupos funcionales (CO_2 , OH , $C=C$, $COOH$, SH , CO_2H) que tienen una alta afinidad por los iones metálicos, pudiendo formar complejos órgano-metálicos. La relación entre la materia orgánica y los metales es importante en la biodisponibilidad de estos debido a su alta capacidad de formar complejos. Los grupos carboxilato (COO^-) de la materia orgánica forman complejos estables con los metales especialmente en ambiente alcalinos, donde la afinidad es mayor. De esta forma los metales pesados quedan adsorbidos en la materia orgánica del suelo y en otras formas de materia orgánica humificada. Por lo tanto al aumentar la cantidad de materia orgánica en el suelo también aumenta la

formación de complejos órgano-metálicos (Sheoran et al., 2015).

2.4.10.2. Procesos del suelo involucrados en la biodisponibilidad

- a. Intercambio catiónico:** todos los suelos presentan cargas negativas en la superficie de sus constituyentes. De acuerdo con el principio del electro-neutralidad, las cargas negativas en la superficie de los coloides son neutralizadas por una cantidad equivalente de cationes en la solución de suelo, los que se pueden quedar absorbidos. Esta absorción de cationes por el suelo es denominada “adsorción no específica”, que se caracteriza porque el ion es atraído electrostáticamente por las superficies cargadas de la fracción coloidal del suelo, sin que haya una dependencia de configuración electrónica con el grupo funcional de la superficie del suelo, formando complejos llamados de esfera externa. La cantidad de iones que pueden ser absorbidos de forma intercambiable en el suelo se llama capacidad de intercambio catiónico. En la mayoría de los casos existe selectividad o preferencia de un catión por otro, por lo tanto, es un proceso competitivo y reversible. En general, la adsorción de los metales a las partículas del suelo reduce la concentración de los metales en la solución del suelo. Así, un suelo con una capacidad de intercambio catiónico (CIC) alta tiene sitios de intercambio en la fracción coloidal del suelo, los que estarán disponibles para una mayor adsorción y posible inmovilización de los metales (Sheoran et al., 2015).
- b. Adsorción específica:** es un fenómeno de alta afinidad, involucrando mecanismos de intercambio entre el metal y el ligando de la superficie de los coloides por medio de

enlaces covalentes o iónicos. La adsorción específica es altamente dependiente del pH e involucra a los coloides orgánicos e inorgánicos (óxidos hidratados de Al, Fe y Mn y la materia orgánica principalmente), y ocurre cuando la concentración de los metales sea baja (Sheoran et al., 2015).

c. Precipitación: Las reacciones de precipitación y disolución dependen del producto de solubilidad (K_{ps}) del sólido en agua. Los iones metálicos en la solución de suelo pueden precipitar con un agente químico, generalmente aniones como fosfatos, carbonatos o sulfatos. También pueden precipitar como hidróxidos al reaccionar con los iones de la solución. La precipitación/disolución son procesos que, además, se ven influenciados por el pH y el potencial Redox del suelo. Las reacciones de precipitación están asociadas normalmente a suelos alcalinos y calcáreos con concentraciones relativamente altas de metales pesados, y además a condiciones que favorezcan una baja solubilidad de estos metales o a la presencia de pocos sitios de adsorción específica. La precipitación es improbable que suceda en condiciones ácidas, excepto cuando hay grandes cantidades de cationes y aniones (Sheoran et al., 2015).

d. Complejación y quelación: la complejación de metales involucra a un ion metálico que está siendo rodeado por uno o más ligandos orgánicos o inorgánicos. La quelación ocurre cuando un ligando polidentado, generalmente una molécula orgánica grande, ocupa dos o más sitios de coordinación alrededor de un ion metálico central. Dentro de los ligandos complejantes orgánicos se encuentran los ácidos cítrico, oxálico y gálico, además de ácidos complejantes más

estructurados, como aquellos incluidos en las fracciones húmica y fúlvica solubles (Sheoran et al., 2015).

2.4.11. Estrategias para el mejoramiento de la fitoextracción

La adición de queladores naturales o sintéticos, Nitrógeno, Fosforo o Ácidos Nítricos han sido extensamente experimentados en la fitorremediación en orden al incremento de la biodisponibilidad del metal en el suelo y consumo de la raíz y retiro de metales. Estos compuestos forman complejos con el metal, así incrementando la concentración en la solución de suelo y así facilitando el traslado de metales a la biomasa aérea (Gonzales et al., 2014).

2.4.11.1. Aplicación de quelantes

Quelantes aceleran la liberación de los metales unidos a los sólidos del suelo porque ellos pueden romper el equilibrio entre el suelo líquido y las fases solidas de los metales pesados.

Varios quelatos reportados son Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido hidroxietilenominodiacético (HEIDA), ácido etilendiamina (EDDS); debido a la naturaleza persistente de EDTA en el suelo existe un riesgo de lixiviación de metales a la superficie y agua subterránea y también a la biota del suelo (Smolinska. Et al., 2015).

Quelatos naturales incluyen una fácil biodegradación y un pobre componente fitotóxico como es el NTA (Ácido nitroloene triacético), y ácidos de bajo peso molecular, como es el acético, cítricos y ácido oxálicos. (Ali. Et al., 2013)

2.4.11.2. Aplicación de fertilizantes (N,P,K)

Una fitoextracción efectiva requiere de un óptimo desarrollo avanzado de un control de prácticas agronómicas incluyendo una gestión de prácticas de suelos para mejorar

la eficiencia de la fitoextracción y una gestión de prácticas de control para desarrollar un sistema del cultivo (Vamerali et al., 2014).

Agentes orgánicos son usados en prácticas agronómicas para reducir el pH del suelo, incrementar la biodisponibilidad del metal e incrementar la producción de biomasa, así la fertilización puede mejorar el rendimiento de la biomasa y reducir síntomas de toxicidad del metal en las plantas. Incrementando la concentración de un soluto en el suelo o disminuyendo el pH puede incrementar el consumo del metal por hiperacumuladores (Vamerali et al., 2014).

2.4.11.2.1. Fertilización con nitrógeno

El uso de fertilizantes es una práctica común cuando se aplica la técnica de fitorremediación en suelos contaminados con metales pesados. Fertilizadores inorgánicos son considerados como aditivos de suelo para proveer nutrientes necesitados para mayor rendimiento de las plantas, y para acidificar el suelo para una mayor biodisponibilidad del metal (Sheoran. Et al., 2015).

Fertilizadores de nitrógeno contienen N en forma de amonio puede acidificar el suelo y disminuir el pH de la rizósfera causando extrusión de H^+ . El ion de amonio puede dirigir la desorción de metales pesados de sitios de intercambio o coloides de suelo por intercambio de iones y así facilitan la absorción de por las plantas (Sheoran. Et al., 2015). La fertilización con nitrógeno ha sido mostrada para incrementar la biomasa y mejorar la extracción del metal. El nitrógeno consumido

por la planta puede distintivamente influenciar en el pH de la rizósfera. El nitrógeno puede ser absorbido por las raíces de las plantas como NH_4^+ y NO_3^- o como urea neutral $((NH_2)_2CO)$. Urea puede también ser hidrolizada por microbios producidos por la ureasa en NH_4^+ , ahí son más cationes que aniones tomados por las células de las raíces. Consecuentemente, H^+ es exudado a un pH regular citosólico y balancea la carga, y el pH de la rizósfera disminuye. En contraste, el consumo de NO_3^- puede causar la extracción del H^+ (Sheoran. Et al., 2015).

CAPITULO III

3. PLANTEAMIENTO METODOLOGICO

3.1. Metodología

3.1.1. Método

3.1.1.1. Ubicación Geográfica

El presente estudio de investigación se realizó en el invernadero de la Universidad Alas Peruanas, Distrito de Pilcomayo de Huancayo, departamento de Junín, Perú.



Figura: N° 5: Ubicación geográfica del invernadero

Fuente: Google Maps, 2015.

3.1.1.2. Montaje experimental

3.1.1.2.1. Toma de muestra de suelo

La toma de muestras del suelo se realizó bajo el enfoque de muestreo aleatorio simple, para el cual el tamaño de la muestra calculada fue de acuerdo a la fórmula del tamaño muestral lo que nos dio como resultado la toma de 49 muestras representativas elegidas al azar de en una área aproximada de 1000 m² (GPMS. Et al., 2014).

3.1.1.2.1.1. Procedimiento de toma de muestra

- Se señaló 49 puntos haciendo un trazo en zig- zag, lo cual permitió cubrir el área para que el muestreo sea más representativo.
- Se quitó de la superficie del terreno restos o residuos frescos de materia orgánica, polvo u otros contaminantes artificiales en cada punto.
- Con una pala se cavo en forma de "V" en una profundidad de 30 cm
- Se tomó una tajada de 10 a 20 cm de espesor de la pared del hueco y se depositó en un balde de plástico limpio de impurezas.
- Se homogeneizó y depositó la muestra en una doble bolsa de plástico, y se colocó la identificación.

3.1.1.2.2. Preparación del sustrato para el crecimiento de la planta

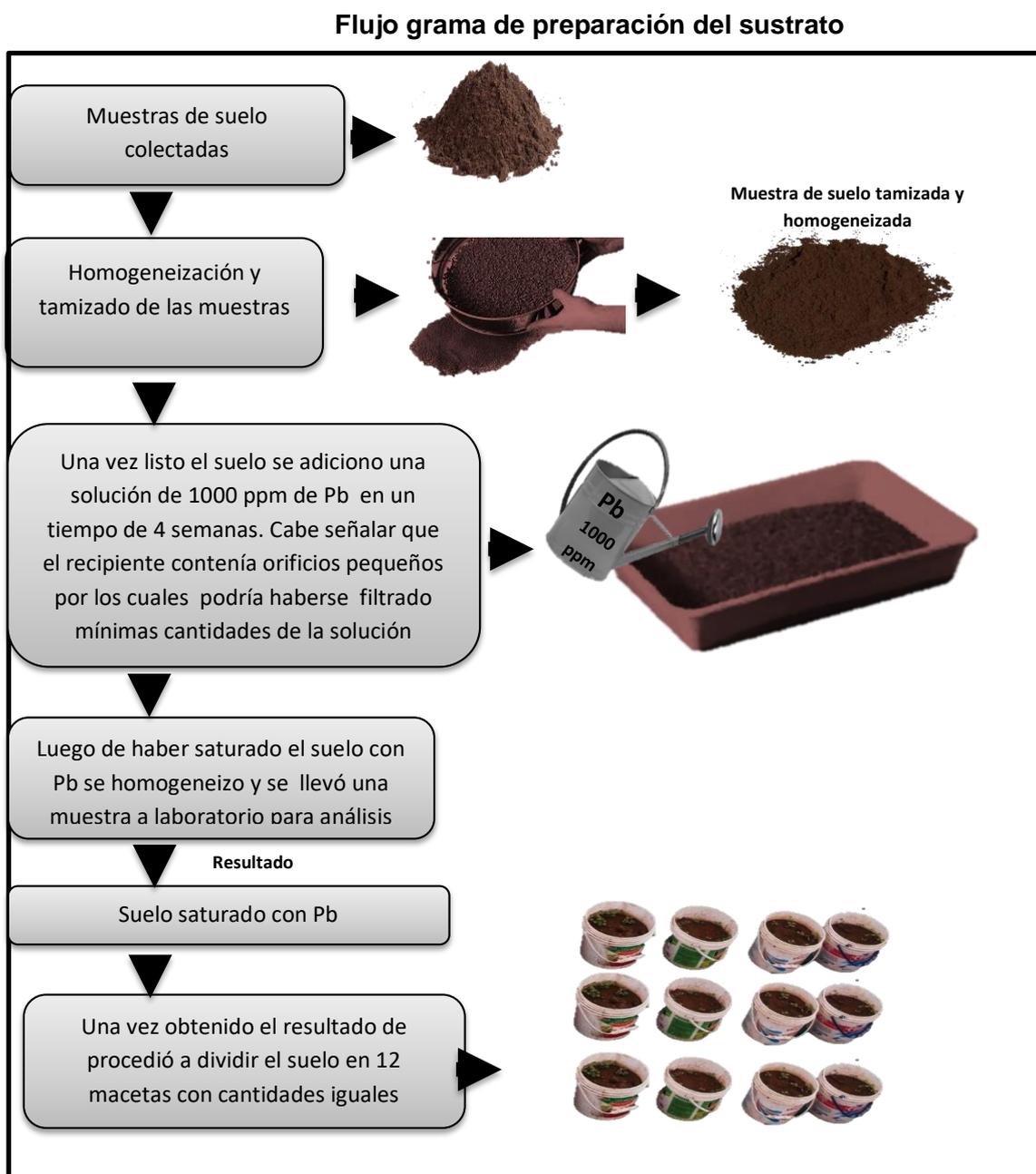


Figura N°6: Flujograma de preparación del sustrato **Fuente:** Propia

Inicialmente se analizó la muestra de suelo obtenida, sin embargo los resultados con respecto a los niveles de Pb en el suelo estaban por debajo de los niveles del ECA en suelos agrícolas, es por ello que se procedió a

agregar soluciones de Pb al suelo colectado para poder realizar la investigación planteada, cabe señalar que el recipiente que contenía las muestras de suelo para la investigación tenía pequeños orificios mediante por el cual se debió haber filtrado pequeñas cantidades de líquido; después de haber culminado con el agregado de la solución de 1000 ppm de Pb como se explica en la Figura N°6 se consiguió un suelo saturado de Pb.

3.1.1.2.3. Siembra de las plantas y adición de los tratamientos

a. Siembra de las plantas

En 12 macetas de 20 cm de altura, se agregó 4 kg del sustrato preparado y se germinaron 15 semillas de la *Brassica campestris* por cada maceta, una vez que comenzaron a brotar las hojas de las semillas, se procedió a sacar los excedentes para solo dejar 6 ejemplares por cada maceta como se muestra en la figura N°8.



Figura N° 7: Macetas sembradas con la *Brassica campestris* en el invernadero de la universidad.

b. Adición de los tratamientos a las plantas sembradas

Se separaron las 12 macetas en grupos de 4, de tres unidades cada uno y se adicionaron las siguientes dosis de nitrógeno de la siguiente manera:

- Grupo 0 - Blanco de control - 0 nM de nitrógeno
- Grupo 1 - Tratamiento 1 - 16 nM de nitrógeno
- Grupo 2 - Tratamiento 2 - 32 nM de nitrógeno
- Grupo 3 - Tratamiento 3 - 48 nM de nitrógeno

Se regaron los grupos con 200 ml de sus respectivos tratamientos interdiariamente, durante un tiempo de tres meses, en la siguiente tabla N°2 se muestra la forma de distribución de los grupos de tratamiento, en ella también incluye la codificación y los grupos dentro de los cuales se encuentran sus repeticiones.

Tratamiento	Blanco de control			1			2			3		
Dosis de N	0 mM			16 mM			32 mM			48 mM		
Repeticiones	B1	B2	B3	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3

Tabla N° 2: Descripción del número de tratamientos y repeticiones realizadas. **Fuente:** Propia

El experimento de la fitoextracción se llevó a cabo en el invernadero de la Universidad Alas Peruanas bajo condiciones naturales de luz y temperatura.

3.1.1.2.4. Cosecha de las plantas, secado y molienda de la *Brassica campestris*

Una vez culminado los tres meses de permanencia, se extrajeron las plantas de las macetas de la siguiente manera:

a. Cosecha de las *Brassica campestris*

Las plantas fueron retiradas de la maceta con mucho cuidado, se limpiaron los restos de suelo y se procedió a medir la longitud de las raíces y la parte aérea de las plantas.

b. Secado y molienda de las *Brassica campestris*

- La planta se dividió en dos partes; raíz y parte aérea.
- Al ser divididas las plantas en dos partes, se codificaron de acuerdo a su grupo de tratamiento.
- Se ingresaron las muestras de raíces y partes aéreas codificadas en un horno a una temperatura de 60°C durante un tiempo de 72 horas.
- Una vez ya secas las muestras se procedió a molerlas en un mortero tal como se muestras en la figura N°9, para luego ser pesadas en una balanza analítica.



Figura N° 8: Proceso de secado y molido de la raíz, tallos y hojas de las plantas.

Fuente: Propia

3.1.1.2.5. Preparación de las muestras para análisis de concentración de metales

Las concentraciones de metal se determinaron siguiendo procedimientos estándar (Chang. Et al., 2013).

a. Análisis de plantas y suelo

Para el análisis de concentraciones de metal en las plantas y suelo, se tomaron 0.5 g de cada muestra codificada molida (parte aérea, raíz y suelo), se colocaron en matraces de 50 ml, una vez colocadas en los matraces se agregó 8 ml de Ácido nítrico (HNO_3) y 2 ml de peróxido de hidrogeno (H_2O_2), luego las muestras ya con los aditivos se colocaron en una plancha de calentamiento a 100°C hasta que quedaron de un color transparente y de una textura espesa (tal como se puede observar en la figura N° 10).

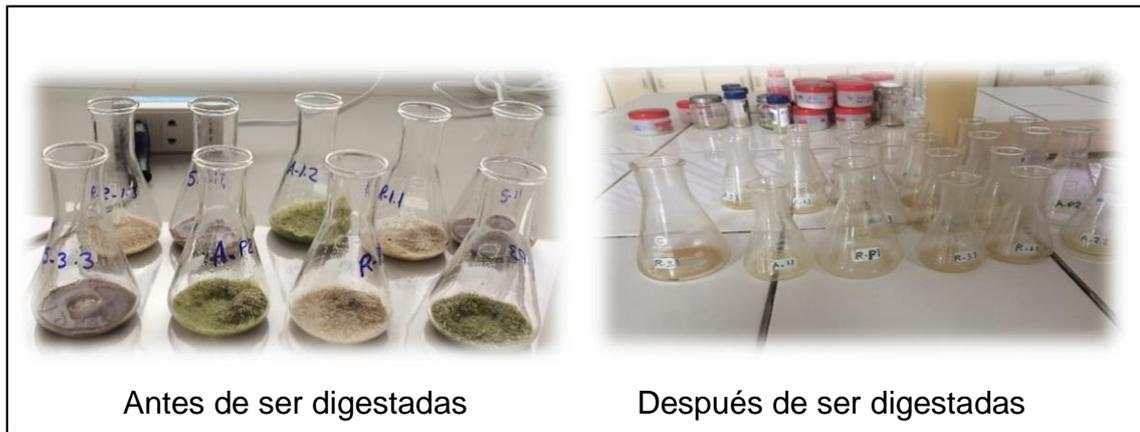


Figura N° 9: Muestras con los aditivos, el antes y el después de ser digeradas.

Fuente: Propia

Luego de ser digeradas, a los matraces con las muestras digeradas se le agrego agua destilada en pocas cantidades, posteriormente se filtraron las muestras con papel filtro en una fiola de 50 ml, ya filtradas las muestras se aforo con agua destilada en las misma fiola a 50 ml, una vez culminado este procedimiento, las muestras se colocaron en frascos para su lectura en un espectrofotómetro de Absorción atómica modelo ASC-6100 (tal como se muestra en las figuras N° 11).

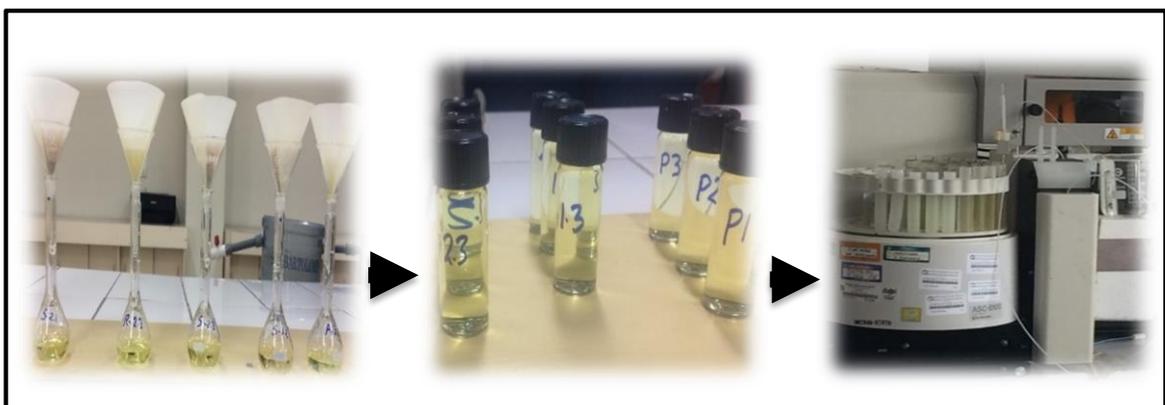


Figura N°10: Procedimiento de filtrado, aforado y lectura de las muestras.

Fuente: Propia

3.1.1.2.6. **Determinación del pH en suelos**

La determinación del pH se realizó por el método electrométrico, para ello se utilizó agua destilada y soluciones reguladoras de referencia, pH 4,00, 7,00 y 10,00 para calibrar el medidor de pH, un potenciómetro, una balanza con 0.1g de sensibilidad, frascos de vidrio de 200 ml y una varilla de vidrio.

- **Procedimiento:**

Se procedió a pesar 100 mg de suelo en los frascos de vidrio, se adicionó 200 ml de agua destilada al frasco contenido con suelo, con la varilla de vidrio se agito manualmente la mezcla de suelo en intervalos de 5 minutos durante 30 minutos, posteriormente se dejó reposar durante 15 minutos, se agito nuevamente la solución y se introdujo el electrodo del potenciómetro y se registró el pH al momento que la lectura se estabilizó.

3.1.1.2.7. **Determinación de la Acumulación de Pb en plantas**

Para determinar la acumulación del metal en la planta, se calculó: el porcentaje de fitoreducción de metal en el suelo a través del factor de bioacumulación (FBC) y el factor de traslocación (FT) mediante los siguientes modelos (Yildirim y Sasmaz, et al., 2016):

- **Factor de bioconcentración**

$$FBC_{Pb} = \frac{Pb_{\text{tejido la planta}}}{Pb_{\text{suelo}}} \dots\dots\dots(2)$$

Dónde: Pb tejido de la planta es la concentración del plomo en el tejido de la planta (mg/Kg) y Pb suelo es la concentración del plomo en el suelo (mg/Kg).

- **Factor de Traslocación**

$$FT = \frac{C_{parte\ aérea}}{C_{raíz}} \dots\dots\dots(3)$$

Dónde: C_{parte aérea} y C_{raíz} es la concentración (mg/Kg) del metal en la parte aérea de la planta y raíz respectivamente.

Las plantas que tienen el FBC >1, TF>1 tienen el potencial para ser usadas en fitoextracción, y las plantas que tienen el FBC > 1 y TF < 1 tienen el potencial para ser usadas en fitoestabilización (Bini et al, 2012).

3.1.2. Tipo de investigación

El tipo de investigación es aplicada, pues es de naturaleza eminentemente práctica aplicando las bases teóricas de la fitorremediación en suelos contaminados con plomo.

3.1.3. Nivel de la investigación

El nivel del presente trabajo de investigación es explicativo y correlacional, pues trata de encontrar una relación causa – efecto, en la cual la variable independiente produce indefectiblemente un efecto en la variable dependiente.

3.2. Diseño de la investigación

En una etapa inicial del estudio de formulación, se requiere conocer cómo influye el nitrógeno en la extracción de Pb en un suelo contaminado usando la *Brassica campestris*, para ello se diseñó un experimento con un solo factor a cuatro niveles y con tres repeticiones como se muestra en la siguiente tabla N°3.

Factor A Tratamiento (Dosis de N)	Bloques (Repeticiones)			Total de Bloques Y _i	Media de Bloques Ȳ _i
	I	II	III		
0 mM	a1	a2	a3	Σy _i	Σy _i /n
16 mM	b1	b2	b3	Σy _i	Σy _i /n
32 mM	c1	c2	c3	Σy _i	Σy _i /n
48 mM	d1	d2	d3	Σy _i	Σy _i /n
Total de Bloques (Y_i)	Σy _i	Σy _i	Σy _i		
Media de Bloques (Ȳ_i)	Σy _i /n	Σy _i /n	Σy _i /n		

Tabla N° 3: Diseño de bloques de un solo factor con cuatro tratamientos y tres repeticiones.

3.2.1. Diseño experimental

El diseño experimental aplicado es factorial con un factor a 4 niveles y tres replicas.

Factores

A: Dosis de nitrógeno (nM)

Niveles

a: 0 nM de Nitrógeno

b: 16 nM de Nitrógeno

c: 32 nM de Nitrógeno

d: 48 nM de Nitrógeno

Este experimento de un factor a 4 niveles, hace un total de cuatro tratamientos con tres repeticiones haciendo un total de 12 unidades experimentales.

3.3. Hipótesis de la investigación

3.3.1. Hipótesis general

La fertilización nitrogenada tendrá influencia significativa sobre la fitoextracción de Pb de suelos contaminados usando la mostacilla (*Brassica campestris*).

3.3.2. Hipótesis específicas

- La caracterización del suelo con respecto a contaminantes como el Pb tendrá niveles que sobrepasen los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas.

- La dosis de nitrógeno tendrá influencia significativa sobre la concentración de plomo en las raíces parte aérea de la especie en estudio.
- La dosis de nitrógeno tendrá influencia significativa sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio.
- Los coeficientes de bioconcentración y traslocación de la especie en estudio serán mayores a 1.

3.4. Variables

3.4.1. Variable independiente

- Dosis de nitrógeno (mM/L)

3.4.2. Variables dependientes

- Concentración de Pb en las raíces y parte aérea (Mg Pb/Kg)
- Longitud de las raíces y la parte aérea (cm)
- Factor de bioconcentración
- Factor de traslocación

3.4.3. Operacionalización de variables e indicadores

	Variables	Indicador
Independiente	Dosis de N	mM/L
Dependiente	Concentración de Pb en las raíces y parte aérea	mg Pb/ Kg
	Longitud de las raíces y la parte aérea	Cm
	Factor de bioconcentración	$FBC_{Pb} = \frac{Pb \text{ tejido la planta}}{Pb_{suelo}}$ Dónde: Pb tejido de la planta es la concentración del plomo en el tejido de la planta(mg/Kg) y Pb suelo es la concentración del plomo en el suelo (mg/Kg)
	Factor de traslocación	$FT = \frac{C_{parte \text{ aérea}}}{C_{raíz}}$ Dónde: Cparte aérea y Craíz es la concentración (mg/Kg) del metal en la parte aérea de la planta y raíz respectivamente.

Tabla N° 4: Operacionalización de las variables e indicadores del estudio

Fuente: propia

3.5. Cobertura de estudio

3.5.1. Población

Suelo contaminado con Pb

3.5.2. Muestra

12 muestras de 4kg de suelo contaminado con Pb

3.5.3. Muestreo

Se tomaron las muestras en base al tipo de muestreo aleatorio simple.

3.6. Técnicas e instrumentos

3.6.1. Técnicas de investigación

- Investigación documental
- Investigación en laboratorio - experimental

3.6.2. Instrumentos de investigación

Para la presente investigación se usaron los siguientes instrumentos de investigación:

3.6.2.1. Instrumentos electrónicos

- pH metro
- Balanza de alta sensibilidad 0.1
- Cinta métrica
- Espectrofotómetro de Absorción atómica modelo ASC-6100
- Excel

3.6.2.2. Instrumentos de registro

- Hoja de cotejo
- Tabla de registros

3.7. Procesamiento estadístico de la información

3.7.1. Estadísticos

Para el procesamiento de datos, de acuerdo al objetivo a conseguir se usaron las siguientes pruebas

- Análisis de la varianza
- Prueba "F" de Fisher
- Prueba de Tukey
- Prueba de Duncan

CAPITULO IV

4. ORGANIZACIÓN, PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Caracterización fisicoquímica del suelo

La caracterización fisicoquímica de la muestra de suelo en estudio se muestra en la siguiente tabla N° 5:

Muestra (Suelo agrícola)	
pH (1:1)	7,33
C.E (1:1)	2,27
%CaCO ₃	12,50
M.O (%)	2,75
K (ppm)	183
CIC	14,05
Ca ²⁺ (ppm)	12,59
Mg ⁺² (ppm)	0,92
Na ⁺ (ppm)	0,07
%Arena	61,34
%Limo	32
%Arcilla	6,16

Tabla N° 5: Análisis fisicoquímico de la muestra de suelo

Fuente: Propia

El valor del pH determinado (7,33) en el suelo en estudio, es calificado medianamente básico, la conductividad eléctrica del suelo es ligeramente salina, lo que muestra que no hay exceso de sales solubles, el contenido de carbonato de calcio es calificado como normal (5 al 15%), el contenido de materia orgánica es calificado como alto (2 a 4%), por lo que es considerado como un suelo orgánico, el fósforo disponible es bajo, el potasio disponible es calificado como medio (100 a 240 mg/Kg) debido a la lenta liberación de potasio de los componentes minerales del suelo, la clase textural del suelo lo califica como franco arenoso y según la USDA lo califica como moderadamente grueso, indicando buenas propiedades físicas, que favorecen la presencia de buena porosidad, densidad aparente baja y facilidad de laboreo, en este suelo predomina la fracción arena, seguida de la fracción limo.

La capacidad de Intercambio catiónico es calificada como moderadamente alta (12 a 20 C mol/Kg) lo cual le confiere a este suelo buena capacidad de retener e intercambiar cationes nutrientes de las plantas favoreciendo su crecimiento.

4.1.2. Concentración de Pb en la muestra de suelo

El resultado del análisis por Absorción atómica de la muestra inicial de suelo sin Plomo agregado fue de 25.60 mg de Pb/ Kg de suelo, una vez agregado las concentraciones de Pb a las muestras de suelo, se midieron y se puede observar en la tabla N° 6, que la concentración de Pb en el suelo es bastante alta, por lo que sobrepasa el ECA para suelos agrícolas que es de 70 mg/Kg.

Concentración de plomo en el suelo antes de la saturación (mg Pb/ Kg de suelo)	25.60
Concentración de plomo en el suelo después de la saturación (mg Pb/ Kg de suelo)	2800

Tabla N° 6: Resultado del análisis de la muestra de suelo sin Pb saturado y con Pb saturado

Fuente: Propia.

4.1.3. Resultados de las plantas y el sustrato después de realizado los tratamientos.

4.1.3.1. Resultados de la Masa seca de la raíz respecto a los diferentes tratamientos:

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Masa seca de la raíz (g)		
	Repeticiones		
	I	II	III
0 nM	4.623	3.841	2.944
16 nM	4.613	3.561	3.78
32 nM	3.742	2.405	3.667
48 nM	3.57	2.263	3.005

Tabla N° 7: Resultado del peso de la masa seca de la raíz.

4.1.3.2. Resultado de la Masa seca de la parte aérea de la planta después del tratamiento:

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Masa seca de la parte aérea (g)		
	Repeticiones		
	I	II	III
0 nM	6.74	7.55	5.18
16 nM	7.32	7.94	7.94
32 nM	8.30	7.33	8.50
48 nM	7.00	7.81	7.01

Tabla N° 8: Resultado del peso de la masa seca de la parte aérea.

4.1.3.3. Resultados de la Longitud de la raíz respecto a la aplicación de los diferentes tratamientos:

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Longitud de raíz (cm)		
	Repeticiones		
	I	II	III
0	17.58	20.50	18.83
16	15.58	15.42	16.27
32	16.53	18.50	16.22
48	12.55	14.52	16.20

Tabla N° 9: Resultado de la longitud de la raíz en los diferentes tratamientos

4.1.3.4. Resultados de la Longitud de la parte aérea de la planta respecto a la aplicación de los diferentes tratamientos:

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Longitud de la parte aérea (cm)		
	Repeticiones		
	I	II	III
0	11.2	13.3	10.9
16	15.1	14.4	14.5
32	17.2	16.6	16.0
48	17.3	17.0	15.2

Tabla N° 10: Resultado de la longitud de la parte aérea de la planta en los diferentes tratamientos.

4.1.3.5. Resultado del análisis de concentración de Pb en muestras de la parte aérea de la planta después de los tratamientos

Tratamiento	Código	Resultado (mg Pb/kg)
Tratamiento 1 (0 nM de Nitrógeno)	0.1 ^a	60
	0.2 ^a	44,98
	0.3 ^a	73,2
Tratamiento 2 (16 nM de Nitrógeno)	1.1 ^a	82,7
	1.2 ^a	68,3
	1.3 ^a	77,22
Tratamiento 3 (32 nM de Nitrógeno)	2.1 ^a	171
	2.1 ^a	171
	2.3 ^a	122,2
Tratamiento 4 (48 nM de Nitrógeno)	3.1 ^a	250,6
	3.2 ^a	100,42
	3.3 ^a	178,5

Tabla N°11: Resultado de los análisis de las muestras de la parte aérea de las plantas

4.1.3.6. Resultado de los análisis de concentración de Pb en las muestras de la raíz de la planta.

Tratamiento	Código	Resultado (mg Pb/kg)
Tratamiento 1 (0 nM de Nitrógeno)	0.1R	78,6
	0.2R	68,6
	0.3R	67
Tratamiento 2 (16 nM de Nitrógeno)	1.1R	154
	1.2R	144
	1.3R	125
Tratamiento 3 (32 nM de Nitrógeno)	2.1R	224
	2.2R	266
	2.3R	222,3
Tratamiento 4 (48 nM de Nitrógeno)	3.1R	285
	3.2R	224,1
	3.3R	214,6

Tabla N° 12: Resultado de los análisis la raíz de las plantas.

4.2. Discusión de resultados

4.2.1. Influencia de las diferentes dosis de nitrógeno

4.2.1.1. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el promedio de la masa seca (MS) de la raíz y parte aérea:

En grafico N°1 se muestra la influencia de las diferentes dosis de nitrógeno sobre el promedio de la masa seca tanto de la parte aérea como de la raíz de la mostacilla de acuerdo a los resultados obtenidos presentados en las tablas N° 7 y N°8. En el grafico se puede observar que la tendencia es el incremento de la MS de la parte aérea conforme la dosis de nitrógeno aumenta desde un valor de 6,49 g hasta 8,04 g con 0 mM y 32 mM de Nitrógeno respectivamente. Según Zhu et al (2009) en general, las aplicaciones de nitrógeno que utilizan amonio, nitrato o urea como fertilizante mejoran la producción de materia seca superficial (MS) en las plantas tal como se puede observar en este trabajo de investigación. En el grafico se observa que los tratamientos con Nitrógeno añadido a

través de urea (16, 32 y 48 mM) produjeron mayor MS en la parte aérea en comparación al no tratado con urea (0 mM), estos resultados encuentran su explicación por el conocimiento general que el nitrógeno es un factor de aceleración importante que incrementa la biomasa vegetal y afecta positivamente sobre el crecimiento de las plantas. Así mismo se observa que la longitud de la raíz disminuye lo cual estaría asociado más a la alta concentración de plomo que existe en el suelo que a la dosis de nitrógeno adicionado.

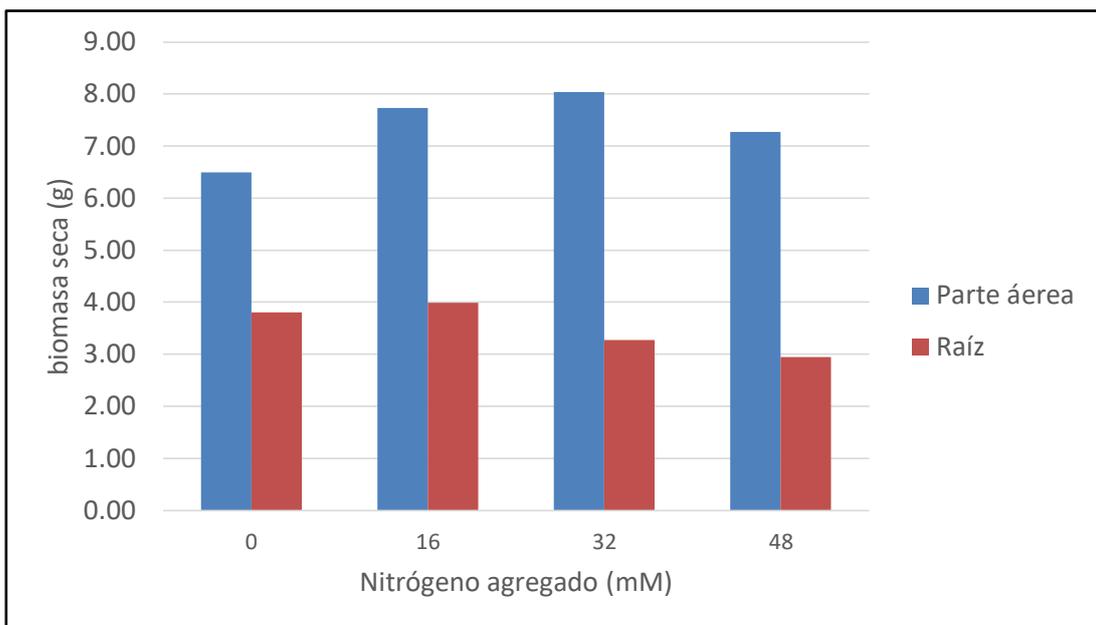


Grafico N°1: influencia de la dosis de N sobre el promedio de la masa seca (MS) de la planta.

4.2.1.2. Influencia de la adición de nitrógeno sobre la longitudes de la parte aéreas y raíces de las plantas.

a. Influencia las dosis de Nitrógeno sobre la longitud de la parte aérea de la planta:

La tabla N° 13 se ilustran las medias del crecimiento de la parte aérea de la planta de acuerdo a las distintas dosis de Nitrógeno agregadas según los resultados

presentados en la tabla N°10. De los resultados se identificó el Coeficiente de Variación igual a 5.34 % lo que indica la no existencia de dispersión entre los datos. Por otro lado se realizó un análisis de la varianza para identificar si los tratamientos difieren entre sí (Tabla A7 del anexo N°7) lo que resultó con un 95 % de confianza estadística que si existe diferencia significativa entre los tratamientos. De acuerdo al resultado obtenido se realizó una prueba de Tukey para conocer el tratamiento que produce mayor efecto y se identificó que los tratamientos de 32 mM y 48 mM de Nitrógeno producen el mayor efecto de crecimiento de la parte aérea (16,6 y 16,5 cm, respectivamente) más que las otras dosis.

<i>Dosis de N (mM/L)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media de la longitud (cm)</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	11.8	X
16	3	14.6667	X
48	3	16.5	X
32	3	16.6	X

%C.V=5.34

Tabla N° 13: Comparación múltiple de medias (Tukey) para Longitud de la parte aérea por efecto de las Dosis de Nitrógeno.

a. Influencia de las dosis de Nitrógeno sobre el crecimiento de la raíz:

En la tabla N°14 se ilustran las medias del crecimiento de la raíz de acuerdo con las distintas dosis de nitrógeno agregadas según los resultados presentados en la tabla N°9. De los resultados se identificó el Coeficiente de Variación que es igual a 7.0697 % lo que indica que no hubo variabilidad entre los datos, el resultado señala que las raíces tuvieron un crecimiento normal conforme a las dosis agregadas. Por otro lado

se realizó un análisis de la varianza para identificar si los tratamientos difieren entre sí (Tabla A5 del anexo 5) lo que resulto con un 95 % de confianza estadística que existe una diferencia significativa entre los tratamientos. Es por ello que de acuerdo al resultado obtenido se realizó una Prueba Tukey para conocer el tratamiento que produce mayor efecto; se identificó que la dosis de nitrógeno de 0 mM produce el mayor crecimiento de la raíz (18,97 cm), lo que nos dice que los tratamientos con bajos niveles de Nitrógeno tuvieron un mayor crecimiento de la raíz.

<i>Dosis de N (mM/L)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media de la Longitud (cm)</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
48	3	14.4233	X
16	3	15.7567	XX
32	3	17.0833	XX
0	3	18.97	X

%C.V=7.0697

Tabla N° 14: Comparación múltiple de medias (Tukey) para Longitud de la raíz por efecto de las Dosis de Nitrógeno

En el grafico N°2, se muestra la influencia de la dosis de nitrógeno sobre la longitud tanto de la parte aérea como de las raíces de la *Brassica campestris*; la adición del nitrógeno afecta en la longitud de la parte aérea y raíces de las plantas de la *Brassica campestris*, conforme se incrementa la dosis de nitrógeno también lo hace la longitud de la parte aérea de la planta de 12 cm hasta 16,49 cm para 0 y 48 mM de nitrógeno respectivamente y con respecto a la longitud de la raíz lo hace de manera contraria de 14.42 cm hasta 18.97 cm para 48 nM y 0 nM.

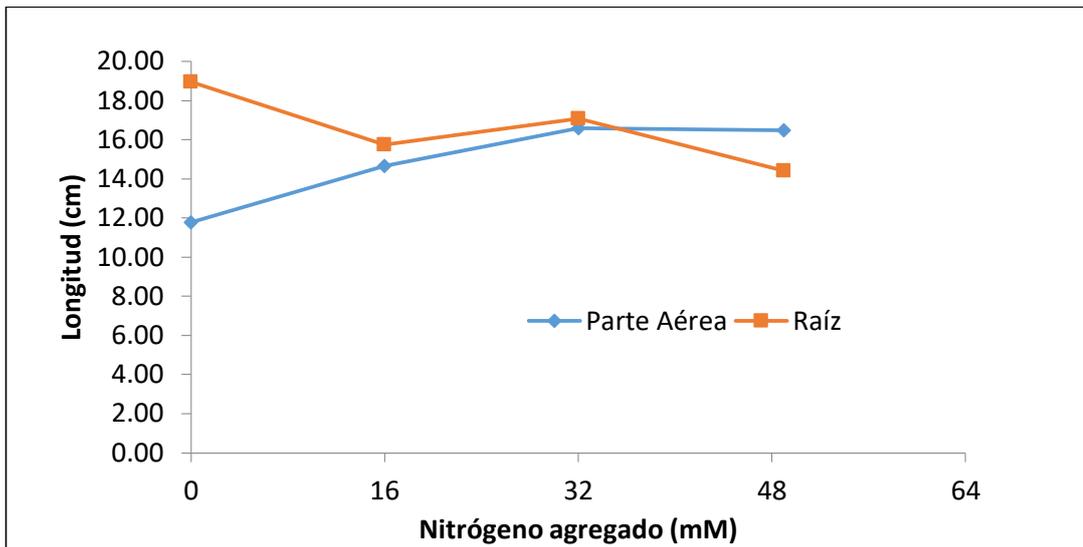


Grafico N°2: Longitud de la parte aérea y la raíz en relación al nitrógeno agregado

El aumento de la fertilización nitrogenada aumenta el crecimiento de las plantas, aumenta la transpiración y la acumulación de biomasa, plantas cultivadas con mayores tasas de Nitrógeno tienen un sistema radicular más extenso lo que resulta en una mayor absorción del metal pesado y otros elementos de la solución del suelo (Sheoran. Et al., 2015), pero lo que se observa que la longitud de la raíz tiende a disminuir conforme la dosis del nitrógeno aumenta, la literatura indica que la fertilización puede alterar las propiedades químicas de la rizósfera, tales como pH, disponibilidad de iones y conductividad eléctrica (CE), estos cambios pueden inhibir el crecimiento de las raíces (Chang. Et al., 2013) sumaría a esto la toxicidad del plomo lo que inhibiría el crecimiento de las raíces, en este estudio el tamaño de las raíces se inhibieron en la dosis de 48 mM de N este resultado es congruente con el peso de la biomasa como se puede observar en el grafico N°1 líneas arriba.

Los resultados mostrados sugieren que la fertilización nitrogenada de suelos contaminados con plomo afecta en la MS y crecimiento de las plantas de la mostacilla y

capacidad de acumulación de plomo tanto en la parte aérea como la raíces.

4.2.2. Influencia de las dosis de Nitrógeno en la concentración de plomo en la raíz y parte aérea

4.2.2.1. Concentración de Pb en la raíz de la planta

En la tabla N°15 se expresa que la dosis de nitrógeno de 48 mM y 32 mM produce la mayor concentración media de plomo en la raíz (241 y 237.43 mg Pb/Kg) que otras dosis. Se llegó a esta conclusión después de realizar un Anova (Tabla A1 del anexo 1) y al encontrar diferencias significativas entre los tratamientos se realizó por consiguiente una prueba de Tukey lo cual determino que las medias de los tratamientos que tuvieron un mayor efecto con respecto a la concentración de Pb en la raíz eran 48 mM y 32 mM. Lo que indica que la raíz respondió positivamente con respecto a la extracción de Pb con los dos tratamientos mencionados, destacando entre ellas el tratamiento de 48 mM.

<i>Dosis de Nitrógeno (mM/L)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media de las concentraciones de Pb (mgPb/Kg)</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	71.0667	X
16	3	141.0	X
32	3	237.433	X
48	3	241.0	X

Tabla N° 15: Comparación múltiple de medias (Tukey) para la concentración de Pb en la raíz por efecto de las dosis de Nitrógeno.

4.2.2.2. Concentración de Pb en la parte aérea de la planta

En la tabla N°16 se expresa que la dosis de Nitrógeno de 48 mM produce la mayor concentración media de Pb en la parte aérea (188.54 mg Pb/Kg) que otros tratamientos. Se llegó a esta conclusión después de realizar un Anova (tabla A2 del anexo 2) y al encontrar diferencias significativas

entre los tratamientos se realizó por consiguiente un prueba de Tukey lo cual determino que entre las medias de los tratamientos, el que tuvo mayor efecto con respecto a la concentración de Pb en la parte aérea de la planta es el tratamiento de 48 mM de Nitrógeno. Lo que indica que la parte aérea de la planta respondió positivamente con respecto a la extracción de Pb con el tratamiento mencionada.

<i>Dosis de Nitrógeno (mM/L)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media de las concentraciones de Pb (mgPb/Kg)</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	65.2	X
16	3	76.0733	XX
32	3	154.733	XX
48	3	188.54	X

Tabla N° 16: Comparación múltiple de medias (Tukey) para concentración de Pb en la parte aérea de la planta por efecto de las dosis de Nitrógeno

En la tabla A1 del Anexo 1, se observa que al realizarse un ANOVA al 95% de confianza estadística, demuestra que si existen diferencias significativas entre las medias de la concentración de plomo en la raíz según las dosis de nitrógeno, pero no existen diferencias significativas entre los bloques o tratamientos. por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques o repeticiones; después de haber realizado un Anova y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se realizó las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan (Tabla A2 del anexo 2) para identificar que tratamientos son diferentes entre sí y cual produce un mayor efecto; los resultados indican que, al 95% de confianza estadística, los tratamientos que produjeron un mayor efecto de concentración de Pb en la raíz fueron las de dosis de 48 Mm de N con una

concentración de 241 mg Pb/Kg y 32 mM con una concentración de 237,433 mgPb/Kg y el tratamiento más bajo fue a la dosis de 0 mM con una concentración de 71,4 mgPb/Kg.

En la tabla A3 del Anexo 3 se observa que al realizarse un ANOVA al 95% de confianza estadística demuestra que si existen diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la concentración de plomo en la parte aérea pero no existen diferencias significativas entre los bloques o tratamientos. por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques o repeticiones; así mismo después de haber realizado un Anova y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se realizó las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan (tabla A4 del anexo 4) para identificar que tratamientos son diferentes entre sí y cual produce un mayor efecto; los resultados indican que al 95% de confianza estadística que los tratamientos que produjeron un mayor efecto en la concentración de Pb en la parte aérea de la planta fueron las dosis de 48 mM con una concentración de 188,54 mgPb/Kg y 32 mM con una concentración de 154,733 mgPb/Kg, y las que produjeron una menor concentración de Pb en la parte aérea fueron las dosis de 16 mM con una concentración de 76,073 mgPb/Kg y la dosis de 0 con una concentración de 65,2 mgPb/Kg.

El grafico N°3 muestra la influencia de la dosis de nitrógeno agregado sobre la concentración del plomo tanto en la raíz como en la parte aérea de la Brassica, se puede observar que la adición del nitrógeno incrementa la fitoextracción del plomo lo que se ve reflejado en el aumento de la concentración del plomo tanto en la parte aérea como en la raíz de la planta conforme la dosis de nitrógeno agregado

se incrementa, la concentración de plomo en la parte aérea, se incrementa de 59,4 mg/Kg hasta 176,5 mg/Kg a 0 mM y 48 mM de nitrógeno agregado. La concentración de plomo en la raíz se incrementa de 71,4 a 241 mg/Kg a 0 mM y 48 mM de nitrógeno agregado.

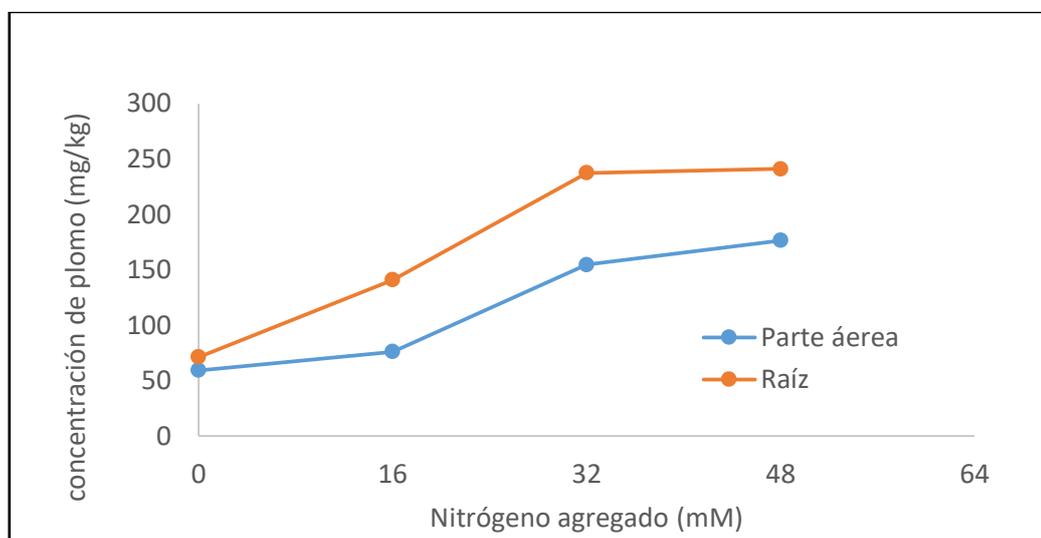


Grafico N°3: Relación de la concentración de Pb en la planta con respecto a la dosis de nitrógeno agregado

Se puede observar también que la *Brassica campestris* acumula mayor cantidad de plomo en sus raíces que en la parte aérea; según Zoya Ghori. Et al., 2016 a concentraciones elevadas del contaminante (metales pesados) la habilidad de las especies de acumular los metales pesados como el plomo en sus raíces está asociada a una estrategia de la planta para evitar su toxicidad, estos resultados están acorde con los reportados por Yang et al., 2011 donde la *Brassica campestris* acumula mayor cantidad de cadmio en sus raíces en comparación a la parte aérea.

Según Landeros et al (2011) la urea incrementaría el plomo intercambiable y soluble en la solución suelo, probablemente a través de la acidificación del suelo, el cual se puede ver en el grafico N°4 donde se muestra la

influencia de la dosis de nitrógeno sobre el pH del suelo, se observa que los valores de pH disminuyen después del tratamiento, esta disminución del valor del pH del suelo contaminando se debería a la desorción del metal plomo de la matriz del suelo debido al desplazamiento de iones metálicos por H^+ (protones) incrementando la solubilidad/Biodisponibilidad y la posterior captación del metal por las raíces de las plantas. Según por (Mitchell et, al.2000) y (Landeros et, al. 2011) la urea, una vez incorporada en el suelo, reacciona (mediante el proceso de hidrólisis) para formar iones NH_4^+ que compiten con otros cationes para sitios de intercambio, el incremento en la tasa de iones NH_4^+ simplemente aumenta esta competencia provocando la desorción del plomo por lo que más cationes incluyendo el Pb se convierten en biodisponibles, estos resultados del pH mostrados en el grafico N°4 están acorde a los presentados por Alaribe y Agamuthu (2015) donde se observa que el pH del suelo va disminuyendo conforme transcurre el tiempo de tratamiento con *pentas laceolata* y esto está asociado al incremento de la fitoextracción de plomo de suelos contaminados.

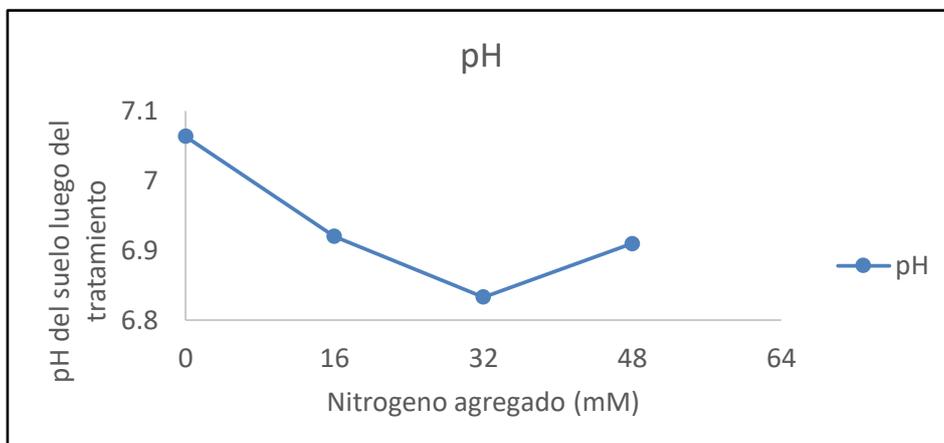


Grafico N°4: pH del suelo después del tratamiento en relación al nitrógeno agregado y al tratamiento con la *Brassica campestris*

4.2.3. Factor de traslocación y bioconcentración de Pb en la planta

La tabla N°17 muestra los valores del factor de traslocación (FT) y Factor de Bioconcentración de plomo (FBC) de la mostacilla, según Kabata-Pendias y Mukherjee (2007) el Pb es menos disponible para las plantas que otros metales pesados aun así la *Brassica campestris* fue eficiente en el traslado y traslocación de Pb. Se puede observar que el FT aumenta conforme la dosis de nitrógeno aumenta de 16 a 48 mM, esto estaría asociado a la cantidad de acumulación de plomo en las raíces y parte aérea discutidos líneas arriba. Las plantas que tienen el $FT > 1$ tienen el potencial para ser usadas en fitoextracción, y las plantas que tienen el $FT < 1$ tienen el potencial para ser usadas en fitoestabilización (Bini et al, 2012). Los valores de $FT < 1$ de la mostacilla hacen de la especie en estudio como fitoestabilizadora.

mM de N	FT	FBC aérea	FBC raíz
0	0.83	0.02	0.03
16	0.54	0.03	0.05
32	0.65	0.06	0.08
48	0.73	0.06	0.09

Tabla N° 17: Factor de translocación y bioconcentración de la planta

Fuente: propia

Los pequeños valores de los FBC se deben en parte tanto a las grandes cantidades de plomo en el suelo (2800 mg/Kg) como al hecho de que en el presente estudio se usó la concentración total de plomo y no la concentración de la fracción de suelo extractable del plomo, por lo tanto el FBC no fue una buena medida de la capacidad de la planta para acumular plomo según lo informado por (Bech et al 2016).

4.3. Contrastación de las Hipótesis

Después de haber obtenido la evidencia empírica; en la presente investigación, mediante pruebas estadísticas como el ANOVA se procede

a comprobar si el determinado supuesto referido es compatible con la evidencia empírica.

Para la contrastación de la hipótesis esta investigación se basa en la formulación de dos hipótesis exhaustivas y mutuamente exclusivas:

- a. Hipótesis alternativa (H1) o de contraste :** indica que el factor tuvo efecto sobre las variables dependientes
- b. Hipótesis nula (H0):** indica que el factor no tiene ningún efecto sobre las variables dependientes.

4.3.1. Contrastación de la hipótesis general:

- La fertilización nitrogenada tendrá influencia significativa sobre la fitoextracción de Pb de suelos contaminados usando la mostacilla (*Brassica campestris*).

Contrastación de la hipótesis:

- **H0:** La fertilización nitrogenada no tendrá influencia significativa sobre la fitoextracción de Plomo de suelos usando la mostacilla (*Brassica campestris*).
- **H1:** La fertilización nitrogenada tendrá influencia significativa sobre la fitoextracción de Plomo de suelos usando la mostacilla (*Brassica campestris*).

Para poder realizar la contrastación planteada se realizó el ANOVA a un nivel de significancia estadística de 0.05 para identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los resultados se muestran en la tabla A1 del Anexo N°1 donde nos indica con un nivel de significancia estadística del 95 % de que si existen diferencias significativas entre las diferentes dosis de nitrógenos agregadas, mientras que para las repeticiones de los tratamientos con un nivel de significancia del 95 % , nos demuestra que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de las diferentes dosis de nitrógeno y no por efecto de sus repeticiones.

4.3.2. Contrastación de las Hipótesis específicas

a. Hipótesis específica 1:

- Las concentraciones de Pb en el suelo tendrán niveles que sobrepasen los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas.

a.1. Contrastación de la hipótesis:

- ***H0***: Las concentraciones de Pb en el suelo no tendrán niveles que sobrepasen los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas
- ***H1***: Las concentraciones de Pb en el suelo tendrán niveles que sobrepasen los Estándares de Calidad Ambiental en suelos agrícolas.

Para probar la hipótesis planteada no fue necesario realizar las pruebas estadísticas, solo se realizó un análisis a la muestra de suelo estudiada con respecto al Pb (tabla N°6); y los resultados obtenidos fueron de 2800 mgPb/Kg con respecto al Pb en suelo, los cuales comparados con el ECA para suelos (Pb para suelos agrícolas de 70 mg Pb/Kg) sobrepasan altamente sus límites establecidos; es por ello que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna.

b. Hipótesis específica 2:

- La dosis de nitrógeno tendrán influencia significativa sobre la concentración de plomo en las raíces parte aérea de la especie en estudio.

b.1. Contrastación de la hipótesis:

- ***H0***: Las dosis de Nitrógeno no tendrán influencia significativa sobre la concentración de Pb en las raíces y parte aérea de la especie en estudio.

- **H1:** Las dosis de Nitrógeno tendrán influencia significativa sobre la concentración de Pb en las raíces y parte aérea de la especie en estudio.

Para poder probar la hipótesis planteada se realizó un diseño de bloques para los resultados obtenidos de las diferentes concentraciones de Pb en la raíz y en la parte aérea de la planta de acuerdo a los tratamientos aplicados como se muestra en las tablas N°18 y N°19 respectivamente.

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Concentración de Pb en la raíz (mgPb/kg)			Suma total del tratamiento	Media del tratamiento
	Bloques				
	I	II	III		
0	78.6	68.6	67	214.2	71.4
16	154	144	125	423	141
32	224	266	222.3	712.3	237.433333
48	285	224	214	723	241
Suma total Bloques	741.6	702.6	628.3		
Media de los Bloques	185.4	175.65	157.075		

Tabla N°18: Diseño de bloques respecto al efecto de la dosis de nitrógeno sobre la concentración de Pb en la raíz de la planta.

Tratamiento Dosis de N (mM/L)	Concentración de Pb en la parte aérea (mgPb/Kg)			Suma total del tratamiento	Media del tratamiento
	Bloques				
	I	II	III		
0	60	44.98	73.2	178.18	59.39
16	82.7	68.3	77.22	228.22	76.07
32	171	171	122.2	464.2	154.7
48	250.6	100.42	178.5	529.52	176.5
Suma total de los Bloques	564.3	384.7	451.12		
Media de los Bloques	141.075	96.175	112.78		

Tabla N°19: Diseño de bloques respecto al efecto de la dosis de nitrógeno sobre la concentración de Pb en la parte aérea de la planta.

Luego de realizado el diseño de bloques para las concentraciones de Pb en la raíz y la parte aérea respecto a las dosis de Nitrógeno aplicadas; se procedió a realizar un análisis de la varianza a cada diseño respectivamente (ver tabla A1 y tabla A3 del anexo 1 y 3 respectivamente), de los cuales los resultados referentes a las concentraciones de Pb en la raíz indicaron con un nivel de significancia estadística del 95% que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95 %, se dice que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de las diferentes dosis de nitrógeno agregado y no por efecto de sus repeticiones, de acuerdo a ello se acepta lo siguiente:

- Las dosis de Nitrógeno tienen influencia significativa sobre la concentración de Pb en las raíces de la especie en estudio.

Y el resultado obtenido referente a las concentraciones de Pb en la parte aérea de la planta con un nivel de significancia estadística del 95 % nos indica de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95%, se dice que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de las diferentes dosis de nitrógeno agregado y no por efecto de sus repeticiones, de acuerdo a ello se acepta lo siguiente:

- Las dosis de Nitrógeno tienen influencia significativa sobre la concentración de Pb en la parte aérea de la especie en estudio.

Con ambas aceptaciones obtenidas después de haber realizado el análisis estadístico respectivo se tiene suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula y aceptar la alterna y decir que las diferentes dosis de Nitrógeno tienen influencia significativa sobre la concentración de Pb en las raíces y parte aérea de la especie en estudio.

c. Hipótesis específica 3:

- La dosis de nitrógeno tendrá influencia significativa sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio.

c.1. Contrastación de la hipótesis:

- **H0:** La dosis de nitrógeno no tendrá influencia significativa sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio.
- **H1:** La dosis de nitrógeno tendrá influencia significativa sobre la longitud de la parte aérea y raíces de la especie en estudio.

Para poder comprobar la hipótesis correcta se realizó un diseño de bloques para los resultados obtenidos de las longitudes de la raíz y en la parte aérea de la planta según a los tratamientos aplicados como se muestra en las tablas N°20 y N°21 respectivamente.

Tratamiento Dosis de N mM/L	Longitud de la raíz (cm)			Suma total del tratamiento	Media del tratamiento
	Bloques				
	I	II	III		
0	17.58	20.50	18.83	56.92	18.97
16	15.58	15.42	16.27	47.27	15.76
32	16.53	18.50	16.22	51.25	17.08
48	12.55	14.52	16.20	43.27	14.42
Suma total de los Bloques	62.25	68.93	67.52		
Media de los Bloques	15.56	17.23	16.88		

Tabla N°20: Diseño de bloques respecto al efecto de la dosis de nitrógeno sobre la longitud de la raíz.

Tratamiento Dosis de N mM/L	Longitud de la parte aérea (cm)			Suma total del tratamiento	Media del tratamiento
	Bloques				
	I	II	III		
0	11.2	13.3	10.9	35.4	11.8
16	15.1	14.4	14.5	44.0	14.7
32	17.2	16.6	16.0	49.8	16.6
48	17.3	17.0	15.2	49.5	16.5
Suma total de los Bloques	60.8	61.3	56.5		
Media de los Bloques	15.2	15.3	14.1		

Tabla N°21: Diseño de bloques respecto al efecto de la dosis de nitrógeno sobre la longitud de la parte aérea de la planta.

Para poder probar la hipótesis planteada se realizó un ANOVA (ver tablas A5 y A7 del anexo 5 y 7) de acuerdo a los diseños de bloques planteados para la raíz y la parte aérea de la planta respectivamente; los resultados obtenidos después de realizado el análisis con respecto a la raíz con nivel de significancia estadística del 95 %, nos indica de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, en lo que se concluye que:

- La dosis de nitrógeno tienen influencia significativa sobre la longitud de raíz de la especie en estudio.

Con respecto al resultado obtenido después de realizado el ANOVA referente a la longitud de la parte aérea, nos indica con un nivel de significancia estadística del 95% de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos en lo que se concluye que:

- La dosis de nitrógeno tienen influencia significativa sobre la longitud de la parte aérea de la especie en estudio.

Con ambas conclusiones obtenidas después de haber realizado el análisis estadístico respectivo, se tiene suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula y aceptar la alterna y decir que las dosis de Nitrógeno tienen influencia significativa sobre la longitud de la raíz y la parte aérea de la especie en estudio.

d. Hipótesis específica 4:

- Los coeficientes de bioconcentración y traslocación de la especie en estudio serán mayores a 1.

d.1. contrastación de la hipótesis

- ***H0***: Los coeficientes de bioconcentración y traslocación de la especie en estudio no serán mayores a 1.
- ***H1***: Los coeficientes de bioconcentración y traslocación de la especie en estudio serán mayores a 1.

Para la contrastación de la Hipótesis específica 3, no fue necesario realizar una prueba estadística debido a que en referencia a la tabla N°13, ninguno de los resultados de los factores de traslocación (FT) y Factores de Bioconcentración (FBC) según las dosis de tratamiento agregadas a la *Brassica campestris*, no alcanzaron el valor de 1, es debido a lo explicado que se acepta la *H0*, y se concluye que los coeficientes de bioconcentración y traslocación de la especie en estudio no serán mayores a 1 y en consecuencia la *Brassica campestris* no es una especie que fitoextrae metales pesados del suelo, solo fitoestabiliza estos elementos.

CONCLUSIONES

- Luego de la saturación con una solución de Pb del suelo agrícola, la concentración de este fue de 2800 mg Pb/Kg de suelo.
- El análisis fisicoquímico del suelo en estudio indica que el suelo es medianamente básico (pH = 7,33), la conductividad eléctrica es de 2.27, lo cual indica que el suelo es ligeramente salino, por lo tanto muestra que no hay exceso de sales solubles, el contenido de carbonato de calcio es normal (5 al 15%), el contenido de materia orgánica es alto (2 a 4%), por lo que es considerado como un suelo orgánico, el fósforo disponible es alto, la clase textural del suelo califica el suelo como franco arenosa indicando buenas propiedades físicas, la capacidad de Intercambio catiónico es moderadamente alta (12 a 20 C mol/Kg) lo cual le confiere a este suelo buena capacidad de retener e intercambiar cationes nutrientes de las plantas favoreciendo su crecimiento.
- La adición del nitrógeno afectó significativa y positivamente en la longitud de la parte aérea y la masa seca (MS) de las plantas de la Brassica; después de haber realizado los análisis y las pruebas estadísticas correspondientes como el ANOVA, los resultados indicaron con un nivel de significancia del 95% que existen diferencias significativas entre las longitudes de la parte aérea de la especie en estudio y la MS con respecto a las diferentes dosis de nitrógeno, que conforme se incrementa la dosis de nitrógeno, también lo hace la longitud y la MS de la parte aérea de la planta; para la dosis de 0 mM la planta creció 12 cm, para la dosis de 48 mM la planta creció 16.49 cm y para la dosis de 32 mM la planta creció 16.6 cm. Se realizó una prueba de Tukey debido a que se consideró importante identificar cual era el mejor tratamiento, de acuerdo a los resultados obtenidos se concluyó que tuvieron un mayor efecto con respecto al crecimiento de la planta fueron las dosis de 48 y 32 mM, pudiéndose aplicar para posteriores tratamientos cualquiera de las dos dosis y del mismo modo las dosis de 32 mM y 48 Mm fueron las que produjeron mayor MS.
- La disminución de la masa seca de las raíces (g) y la longitud de la parte aérea de las planta estaría asociada más a la alta concentración de plomo

en el suelo (2800 mg Pb/Kg suelo) que a la adición de diferentes dosis de nitrógeno.

- Se realizó un ANOVA para identificar si existían diferencias significativas en la concentración de Pb en la raíz y parte aérea con respecto a la aplicación de las diferentes dosis de Nitrógeno; el cual nos dio como resultado con un nivel del 95% de significancia de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la concentración de Pb en la raíz y parte aérea, con respecto a ello se concluyó que la adición del nitrógeno incrementa la fitoextracción del plomo lo que se ve reflejado en el aumento de la concentración del plomo tanto en la parte aérea como en la raíz de la planta, la concentración de plomo en la parte aérea se incrementa de 59,4 mg/Kg hasta 176,5 mg/Kg a 0 mM y 48 mM de nitrógeno agregado. La concentración de plomo en la raíz se incrementa de 71,4 a 241 mg/Kg a 0 mM y 48 mM de nitrógeno agregado. Se realizó una prueba de Tukey debido a que se consideró importante identificar que tratamiento extrajo mayor cantidad de Pb y como resultado de la prueba nos dio que las dosis de 48 mM y 32 mM fueron los tratamientos tanto para la raíz y parte aérea que extrajeron una cantidad mayor de Pb con respecto a los otros tratamientos.
- La mayor acumulación de plomo en la raíz por parte de la Brassica estaría asociada a su habilidad de acumular el plomo como una estrategia de la planta para evitar su toxicidad debido a la alta concentración del metal en el suelo.
- Los valores de $FT < 1$ de la Brassica hacen de esta especie en estudio fitoestabilizadora.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar la presente investigación en trabajos de campo, para estudiar la posibilidad de descontaminar grandes proporciones de suelo en un tiempo relativamente más corto que el normal cuando se aplica la metodología de fitoextracción común.
- Los metales pueden ser estabilizados en la *Brassica campestris*, cosechados y confinados, evitando que los metales pesados se encuentren expuestos a la acción de factores ambientales las dispersen en áreas en que la población humana sea potencialmente dañada.
- Usar las plantas hiperacumuladoras en fitominería, lo cual consiste en recuperar minerales absorbidos por las plantas, usándolas a ellas en minas.

BIBLIOGRAFÍA

Aldoobie, N.F., Beltagi, M.S., 2013. Physiological, biochemical and molecular responses of common vena (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. *Afr. J. Biotechnol.* 12 (29), 4614–4622.

Ahmadpour, P., Ahmadpour, F., Mahmud, T., Abdu, A., Soleimani, M., Tayefeh, F.H., 2014. Phytoremediation of heavy metals: a green technology. In: Asrari, E. (Ed.), *Heavy Metal Contamination of Water and Soil: Analysis, Assessment, and Remediation Strategies*. CRC Press, Taylor and Francis, p. 249.

Ali H, Khan E, Anwar M. S., 2013. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere* 91, 869–881.

Alloway, B.J. 2012. Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils. En: *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soil and Their Bioavailability*. Chapter 2, Third edition. University of Reading, UK. p. 11-50.

ARTSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (1993). Toxicological profile for lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.

Azcona C. Mará Isabel. 2015. Efectos tóxicos del Plomo. *Rev Esp Med Quir* 2015; 20: 72-77.

Bayón Sanz S. 2015. Aplicación de la fitorremediación a suelos contaminados por metales pesados. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. Madrid-España.

Bert, V., Bonnin, I., Saumitou-Laprade, P., De Laguerie, P., Petit, D., 2002. Do *Arabidopsis halleri* from nonmetallicolous populations accumulate zinc and cadmium more effectively than those from metallicolous populations *New Phytol.* 155 (1), 47–57.

Bonilla Valencia, S. M. 2013. Estudio para tratamientos de biorremediación de suelos contaminados con Plomo, utilizando el método de fitorremediación. Quito – Ecuador.

Burger, M. y Román, D. 2010. Plomo, salud y ambiente. Organización Panamericana de la salud, Uruguay.

Brunetti, G. Farrag, K. 2011. Greenhouse and Field Studies on Cr, Cu, Pb and Zn Phytoextraction by Brassica napus from Contaminated Soils in the Apulia Region, Southern Italy. *J.geoderma*.2010.10.023.

Bustíos C., Martina M., Arroyo R. (2013), Deterioro de la Calidad Ambiental y la Salud en el Perú actual, *Revista Peruana de Epidemiología*, Lima, Perú.

Chang Yu- Sen, Chang, Yu- Jie, Lin, Chien-Tsan. 2013. Nitrogen fertilization promotes the phytoremediation of cadmium in *Pentas lanceolata*. 85-10.1016/j.ibiod.2013.05.021.

Cheng Shu-Fen, Huang Chin-Yuan, Lin Yung-Cheng, Chen Kuo-Lin. 2015. Phytoremediation of lead using corn in contaminated agricultural land-An in situ study and benefit assesment. *Ecotoxicology and environmental safety*. Volume 111, Pages 72-77.

Czarnecki, S., Düring, R.A., 2015. Influence of long-term mineral fertilization on metal contents and properties of soil samples taken from different locations in Hesse, Germany.

Delgadillo A., Gonzales C., Prieto F., Villagomez J., Acevedo O. 2011. Fitorremediación: Una alternative para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14: 597- 612.

De la peña Cerda, V. R. 2014. Evaluación de la concentración de Plomo y Cadmio en suelo superficial de parques y plazas públicas, en tres municipios del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México.

Dixit, R., Wasiullah, M.D., Pandiyan, K., Singh, U.B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B.P., Rai, J.P., Sharma, P.K., Lade, H., Paul, D., 2015. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability* 2015 (7), 2189–2212.

Encinas Malagón M. D. 2011. Medio Ambiente y Contaminación. Principios básicos. Primera edición.

El Mantaro Revive, 2007. Avances de Resultados de la Evaluación de Calidad Ambiental de los Recursos Agua y Suelo. Fondo Italo Peruano, Perú.

Gadd, G.M., 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156, 609–643.

Garcia-Leston, J., Roma-Torres, J., Vilares, M., Pinto, R., Prista, J., Teixeira, J.P., Mayan, O., Conde, J., Pingarilho, M., Gaspar, J.F., Pasaro, E., Mendez, J., Laffon, B., 2012. Genotoxic effects of occupational exposure to lead and influence of polymorphisms in genes involved in lead toxicokinetics and in DNA repair. *Environ. Int.* 43, 29–36.

Greipsson, S., 2011. Phytoremediation. *Nat. Educ. Knowl.* 3, 7
Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of Its by Products. *Asian J. Energy Environ.* 6, 214–231

Gonzales I., Neaman A., Cortes A., Rubio P., 2014. Effect of compost and biodegradable chelate addition on phytoextraction of copper by *Oenothera picensis* grown in Cu- Contaminated acid soils. *Chemosphere.* 95: 11-115.

Goolsby, E.W., Mason, C.M., 2015. Toward a more physiologically and evolutionarily relevant definition of metal hyperaccumulation in plants. *Front. Plant Sci.* 6, 33.

Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by products. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 3, 1-18.

Greipsson, S., 2011. Phytoremediation. *Nat. Educ. Knowledge* 2, 7.

GMAS, 2000. Guía para el Muestreo y Análisis de Suelo. Ministerio de Energía y Minas, Dirección de Asuntos Ambientales, Perú.

Khan, M.A., Ahmad, I., Rahman, I., 2007. Effect of environmental pollution on heavy metals content of *Anisomnifera*. *J. Chin. Chem. Soc.*

Landeros, O., Trejo, R., Reveles, M., 2011. Uso potencial del Huaziche (*Acacia farnesiana* L. Will) en la fitorremediación de suelos contaminados con Plomo. México – Zacatecas.

- Maestri, E., Marmiroli, M., Visioli, G., Marmiroli, N., 2010. Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. *Environ. Exp. Bot.* 68 (1), 1–13.
- Mahmood, T., 2010. Phytoextraction of heavy metals-the process and scope for remediation of contaminated soils. *Soil Environ.* 29 (2), 91–109.
- Marrero C., Amores I., Coto O., 2012, Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental, Instituto cubano de investigaciones sobre los derivados de la caña de azúcar, Cuba.
- Martinez, S.A., Simonella, L., Hansen, C., Rivolta, S., Cancela, L.M., Virgolini, M.B., 2013. Blood lead levels and enzymatic biomarkers of environmental lead exposure in children in Cordoba, Argentina, after the ban of leaded gasoline. *Hum. Exp. Toxicol.* 32 (5), 449–463.
- Ministerio del Medio Ambiente de Perú, 2012. Agenda Nacional de Acción Ambiental, Lima Perú.
- Mugica-Alvarez, V., Cortés-Jimeñez, V., Vaca-Mier, M., Domínguez-Soria, V., 2015. Phytoremediation of mine tailings using *Lolium multiflorum*. *Int. J. Environ. Sci. Develop.* 6 (4), 246–251.
- Pattanayak, B., Dhal, N.K., 2014. Biotechnological potential of plantmicrobes interaction with enhanced phytoremediation. *J. Environ. Res. Dev.* 8, 676–682.
- Prashar, P., Kapoor, N., Sachdeva, S., 2014. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 13 (1), 63–77.
- Prapagdee, B., Chanprasert, M., Mongkolsuk, S., 2013. Bioaugmentation with cadmium-resistant plant growthpromoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by *Helianthus annuus*. *Chemosphere* 92 (6), 659–666.
- Smolinska, B., 2015. Green waste compost as an amendment during induced phytoextraction of mercurycontaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (5), 3528–3537.
- Salazar, M.J., Pignata, M.L., 2014. Lead accumulation in plants grown in polluted soils. Screening of native species for

phytoremediation. *J. Geochem. Explor.*, volume 137, 29-36.

Segovia Caqueo, M. E. 2014. Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de elementos traza en suelos contaminados y plantas. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas, Universidad de Chile.

Sheoran V., Sheoran A., y Poonia P., 2015, Factors Affecting Phytoextraction: A review. *Pedosphere*. 26(2): 148–166. A review. *Pedosphere*. 26(2): 148–166.

Sierra D. 2014, Una historia social y ambiental de la contaminación atmosférica en la ciudad de Medellín durante los años 70. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Souhila B., Nameri N, Abdi N.Hocine G., Lounici H., Drouiche N. 2016. Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola (*Brassica napus* L.). *Ecological Engineering* 95:43-49.

Tangahu, B.V., Sheikh Abdullah, S.R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., Mukhlisin, M., 2011. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *Int. J. Chem. Eng.* 2011, 31. Article ID 939161.

Upadhyay, S.K., Singh, D.P., 2014. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. *Plant Biol.*

Vamerali T., Marinna M., Lucchini P., Dickinson N., Mosca G., 2014. Long-Term Phytomanagement of metal- contaminated land with field crops: Integrated remediation and biofortification. *Eur J Agron.* 53: 56-66.

Wu, H.M., Lin-Tan, D.T., Wang, M.L., Huang, H.Y., Lee, C.L., Wang, H.S., Soong, Y.K., Lin, J.L., 2012. Lead level in seminal plasma may affect semen quality for men without occupational exposure to lead. *Reprod. Toxicol. Biol. Endocrinol.* 10. <http://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-10-91>.

Zoya Ghorri. 2016. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soil. Atta-ur-Rahman School of Applied Biosciences, National University of Sciences and Technology (NUST), Islamabad, Pakistan; Department of Bioscience and Biotechnology, Banasthali University, Tonk, Rajasthan, India; Department of Botany, S.P. College, Srinagar, Jammu and Kashmir, India.

Yang Y., Nan Z., Zhao Z., Wang Z., Wang S., Wang X., Jin W., Zhao C., 2011. Bioaccumulation and translocation of cadmium in cole (Brassica campestris L.) and celery (Apium graveolens) grown in the polluted oasis soil, Northwest of China Journal of Environmental Sciences, 23(8) 1368–1374.

Yulieth C. Reyes, Inés Vergara, Omar E. Torres, Mercedes Díaz, Edgar E. Gonzales. 2016. Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo, Vol.16 N°2. Julio- Diciembre 2016, pp66-77. Sogamoso-Bogotá. Colombia.

Young-Mathews, A. 2012. Plant guide for field mustard (Brassica rapa var. rapa). USDA-Natural Resources Conservation Service, Corvallis Plant Materials Center, Corvallis, OR. Published August 2012.

ANEXOS

Anexos

Anexo N° 1: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de Nitrógeno sobre la concentración de Pb en la raíz.

Se realizó un ANOVA a un nivel de significancia estadística de 0.05 para identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los resultados se muestran en la tabla A1 donde nos indica con un nivel de significancia estadística del 95%, de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95% , se dice que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Tratamiento	60365.6225	3	20121.8742	39.7661	0.0002	4.7571
Bloques	1656.5317	2	828.2658	1.6369	0.2708	5.1433
Error	3036.0350	6	506.0058			
Total	65058.1892	11				

Tabla N°A1: Análisis de la varianza para un diseño de bloques aleatorios con respecto a la concentración de Pb en la raíz.

Anexo N°2: Prueba de Tukey y de Duncan para las medias de la concentración de Pb en la raíz

Después de haber realizado el ANOVA y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se desea conocer que tratamientos son diferentes entre sí o cual produce un mayor efecto, para ello se realizó una prueba de Tukey a un nivel de significancia estadística de 0.05. Después de realizarse la prueba de Tukey y Duncan se muestran los resultados en la tabla A2 al 95% de confianza estadística que las medias más altas de la concentración de plomo en la raíz corresponden a las dosis de nitrógeno de 48 (241 mg) y 32 (237,433 mg), y la más baja a la dosis de 0 (71,4 mg).

	Dosis	N	Subconjunto		
			1	2	3
HSD Tukey ^{a,b}	0	3	71,400		
	16	3		141,000	
	32	3			237,433
	48	3			241,000
	Sig.		1,000	1,000	,998
Duncan ^{a,b}	0	3	71,400		
	16	3		141,000	
	32	3			237,433
	48	3			241,000
	Sig.		1,000	1,000	,861

Tabla A2: Prueba estadística de Tukey y Duncan para concentración de Pb en la raíz

Anexo N°3: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de nitrógeno sobre la concentración de pb en la parte aérea.

Se realizó un ANOVA a un nivel de significancia estadística de 0.05 para identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los resultados se muestran en la tabla A3 donde nos indica con un nivel de significancia estadística del 95% de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95% indica que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Tratamiento	32494.680	3	10831.560	5.916	0.032	4.757
Bloques	3045.884	2	1522.942	0.832	0.480	5.143
Error	10984.936	6	1830.823			
Total	46525.501	11				

Tabla A3: Análisis de la varianza para la concentración de Pb en la parte aérea

Anexo N°4: Prueba de tukey y de duncan para las medias de la concentración de pb en la parte aérea

Después de haber realizado el ANOVA y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se desea conocer que tratamientos son diferentes entre sí o cual produce un mayor efecto, para ello se realizó una prueba de Tukey a un nivel de significancia estadística de 0.05. Después de realizarse la prueba de Tukey y Duncan se muestran los resultados en la tabla A4 donde al 95% de confianza estadística las medias más altas de la concentración de plomo en la parte aérea corresponden a las dosis de nitrógeno de 48 (188,54 mg) y 32 (154,733 mg), y las más bajas a las dosis de 16 (76,073 mg) y 0 (65,2 mg).

	Dosis	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	0	3	65,2000		
	16	3	76,0733		
	32	3	154,7333	154,7333	
	48	3		188,5400	
	Sig.			,114	,760
Duncan ^a	0	3	65,2000		
	16	3	76,0733	76,0733	
	32	3		154,7333	154,7333
	48	3			188,5400
	Sig.			,759	,050

Tabla A4: Prueba estadística de Tukey y Duncan para concentración de Pb en parte aérea.

Anexo N° 5: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de nitrógeno sobre el crecimiento de la longitud de la raíz.

Se realizó un ANOVA a un nivel de significancia estadística de 0.05 para identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los resultados se muestran en la tabla A5 donde nos indica con un nivel de significancia estadística del 95% de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95% , se dice que no existen diferencias significativas entre ellos por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Tratamiento	33.930	3	11.310	8.253	0.015	4.76
Bloques	6.201	2	3.100	2.262	0.185	5.14
Error	8.222	6	1.370			
Total	48.353	11				

Tabla A5: Análisis de la varianza para el longitud de la raíz

Anexo N°6: Prueba de tukey y de duncan para las medias de la longitud de la raíz.

Después de haber realizado el ANOVA y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se desea conocer que tratamientos son diferentes entre sí o cual produce un mayor efecto, para ello se realizó una prueba de Tukey a un nivel de significancia estadística de 0.05. Después de realizarse la prueba de Tukey y Duncan se muestran los resultados en la tabla A6 donde se muestra al 95% de confianza estadística que las medias más altas de crecimiento de la raíz corresponden a las dosis de nitrógeno de 0 (18,97 cm) y 32 (17,08 cm), y las más baja a la dosis de 16 (15,76 cm) y 48 (14,42 cm).

Crecimiento de la raíz					
	Dosis	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	48	3	14,4233		
	16	3	15,7567	15,7567	
	32	3	17,0833	17,0833	
	0	3		18,9700	
	Sig.			,149	,073
Duncan ^a	48	3	14,4233		
	16	3	15,7567	15,7567	
	32	3		17,0833	17,0833
	0	3			18,9700
	Sig.			,259	,261

Tabla A6: Prueba estadística de Tukey y Duncan para la longitud de la raíz

Anexo N°7: Análisis de la varianza del efecto de las dosis de nitrógeno sobre el crecimiento de la longitud de la parte aérea.

Se realizó un ANOVA a un nivel de significancia estadística de 0.05 para identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los resultados se muestran en la tabla A7 donde nos indica con un nivel de significancia estadística 95 % de que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que para los bloques con un nivel de significancia del 95 %, para los bloques se dice que no existen diferencias significativas entre ellos, por lo que se concluye que la diferencia estadística encontrada fue por efecto de los tratamientos y no por efecto de los bloques.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Tratamiento	45.510	3	15.170	24.030	0.001	4.757
Bloques	3.413	2	1.706	2.703	0.146	5.143
Error	3.788	6	0.631			
Total	52.711	11				

Tabla A7: Análisis de la varianza para la longitud de la parte aérea

Anexo N°8: Prueba de tukey y de duncan para las medias de la longitud de la parte aérea.

Después de haber realizado el ANOVA y haber comprobado la existencia de diferencias significativas entre los efectos del factor, se desea conocer que tratamientos son diferentes entre sí o cual produce un mayor efecto, para ello se realizó una prueba de Tukey a un nivel de significancia estadística de 0.05. Después de realizarse la prueba de Tukey y Duncan se muestran los resultados en la tabla A8 donde se muestra al 95% de confianza estadística que las medias más altas del tamaño de la parte aérea corresponden a las dosis de nitrógeno de 32 (16,6 cm) y 48 (16,5 cm), y la más baja a la dosis de 0 (11,79 cm).

Tamaño de la parte aérea					
	Dosis	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	0	3	11,7900		
	16	3		14,6567	
	48	3		16,4967	
	32	3		16,6000	
	Sig.			1,000	,132
Duncan ^a	0	3	11,7900		
	16	3		14,6567	
	48	3			16,4967
	32	3			16,6000
	Sig.			1,000	1,000

Tabla A8: Prueba estadística de Tukey y Duncan para la longitud de la parte aérea

Anexo N°9: Resultados de laboratorio de la caracterización de suelo y concentración de plomo en el suelo.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA

DEPARTAMENTO DE RECURSOS HÍDRICOS DRH
 LABORATORIO DE AGUA, SUELO, MEDIO AMBIENTE Y FERTIRRIEGO

Av. La Molina s/n. Telefax: 6147800 Anexo 226 Lima. E-mail: las-fia@lamolina.edu.pe



N° 010842

ANALISIS DE SUELO - CARACTERIZACION

SOLICITANTE : ING. CARMENCITA LAVADO MEZA
 PROCEDENCIA : ORCOTUNA- HUANCAYO
 RESP. ANALISIS : Ing. Elizabeth Monterrey Porras
 FECHA DE ANALISIS : La Molina, 03 de Octubre del 2016

Número de muestra		CE dS / m Relación 1:1	Análisis Mecánico				pH Relación 1:1	M.O. %	P ppm	K ppm	CaCO ₃ %	Cationes Cambiables					
Lab.	Campo		Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura						Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	Al ⁺⁺⁺ +H ⁺	
												Cmol (+) / Kg					
10842	Suelo	2.27	61.84	32.00	6.16	Franco arenoso	7.33	2.75	20.96	183.00	12.50	14.05	12.89	0.92	0.07	0.17	-

Micro elemento		
Pb	(ppm)	26.60

LABORATORIO DE ANALISIS DE AGUA Y SUELO



Anexo N°10: Resultados de laboratorio del análisis de las concentraciones de plomo en la planta y suelo.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ
LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL**

**ANÁLISIS POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE
ABSORCIÓN ATÓMICA**

REPORTE DE RESULTADOS N° 02-2017

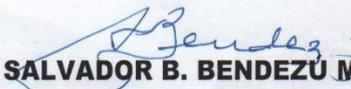
Interesado : Mendez Revollar, Yerli
Responsable de la preparación : El solicitante.
Tipo de Muestra : Soluciones.
Determinación : Plomo
Método de Análisis : Flama

RESULTADOS

CODIGO	Pb (mg Pb/Kg de muestra)	CODIGO	Pb (mg Pb/Kg de muestra)	CODIGO	Pb (mg Pb/Kg de muestra)
1	2800	0S1	2654	0R1	78.6
0A1	60	0S2	2752.8	0R2	68.6
0A2	44.98	0S3	2570.6	0R3	67
0A3	73.2	1S1	2698.9	1R1	154
1A1	82.7	1S2	2655.3	1R2	144
1A2	68.3	1S3	2429.4	1R3	125
1A3	77.22	2S1	2657.9	2R1	224
2A1	171	2S2	2601.4	2R2	266
2A3	171	2S3	2442.3	2R3	222.3
2A3	122.2	3S1	2604	3R1	285
3A1	250.6	3S2	2532.1	3R2	224.1
3A2	100.42	3S3	2552.6	3R3	214.6
3A3	178.5				

* Los resultados obtenidos se refieren solo a la muestra ensayada.

* Los resultados de los ensayos obtenidos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado del sistema de calidad.


Dr. SALVADOR B. BENEDZU MONTES
Director



c.c./Archivo

Ciudad Universitaria Av. Mariscal Castilla N° 3909 - El Tambo - Huancayo
Pabellón "C" segundo piso
Telef. 481062 - Anexo 3768 Fax: (064) 248595

Anexo N°11: Homogeneización de las muestras de suelo.



Fuente: Propia.

Anexo N°12: Macetas sembradas con las especie en estudio.



Fuente: Propia.

Anexo N°13: Crecimiento de las plantas en cada maceta.



Fuente: Propia.

Anexo N°14: Secado de plantas después de ser cosechadas.



Fuente: Propia.

Anexo N°15: Plantas cosechadas secas y molidas.



Fuente: Propia.

Anexo N°16: Muestras de la especie puestas en vasos de precipitación



Fuente: Propia.

Anexo N°17: Secado de las muestras de la especie en estudio.



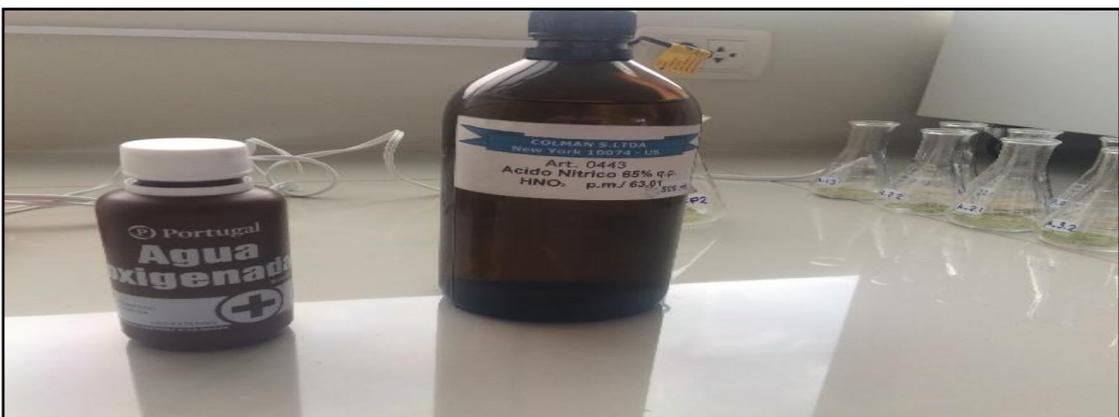
Fuente: Propia.

Anexo N°18: Diferentes muestras de las plantas puestas en matraces para su análisis.



Fuente: Propia.

Anexo N°19: Acido clorhídrico y peróxido de hidrogeno utilizados en la investigación.



Fuente: Propia.

Anexo N°20: Muestras de suelo con los aditivos.



Fuente: Propia.

Anexo N°21: Diferentes muestras de la especie en estudio con los aditivos.



Fuente: Propia.

Anexo N°22: Muestras en procesos de digestión.



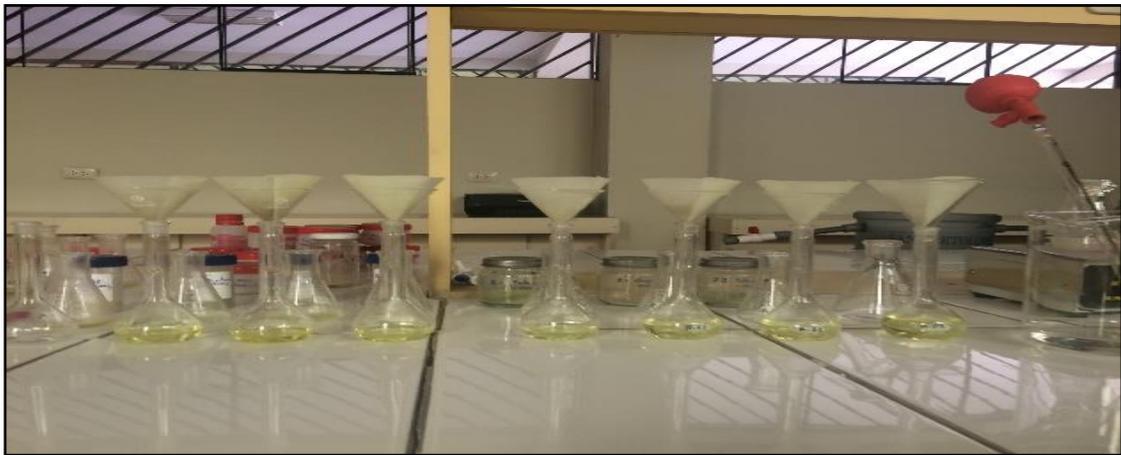
Fuente: Propia.

Anexo N°23: Muestras digeridas.



Fuente: Propia.

Anexo N°24: Muestras digeridas en proceso de filtración.



Fuente: Propia.

Anexo N°25: Muestras filtradas y aforadas.



Fuente: Propia.

Anexo N°26: Muestras enfrascadas para su posterior lectura.



Fuente: Propia.

Anexo N°27: Muestras siendo leídas por absorción atómica.



Fuente: Propia.

Anexo N°28: Muestra de suelo siendo listas para la medición de ph.



Fuente: Propia.