

UNIVERSIDAD NACIONAL TECNOLÓGICA DE LIMA SUR

FACULTAD DE INGENIERÍA Y GESTIÓN

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**“EFECTOS EN LOS PRIMEROS ESTADIOS FENÓLOGICOS DE
LA *Brassica juncea* CULTIVADO EN UN SUELO CONTAMINADO POR
PLOMO”**

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Para optar el Título Profesional de

INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADO POR EL BACHILLER

LARIOS CARDENAS, DAYANA

Villa El Salvador

2019

DEDICATORIA

Con todo mi amor para mis padres, por su respaldo y motivación brindada siempre, por sus enseñanzas y ejemplo de vida.

A José Carlos, por mostrarme que ser perseverante en esta vida es un pilar importante.

AGRADECIMIENTO

En este proceso de investigación muchas personas han participado en mi Trabajo de Suficiencia Profesional, les agradezco por su respaldo y entera confianza.

En primer lugar, a Dios, por darme el privilegio de vivir y poner en mi camino personas que influenciaron en mí. A mis padres por ser mi ejemplo y fortaleza.

Agradezco a Compassion International por su apoyo a través del programa LDP, por brindarme los recursos económicos y las herramientas para ejercer un liderazgo que influya en la sociedad.

Un agradecimiento a mis profesores que me enseñaron en toda mi etapa universitaria, que los conocimientos brindados fueron consolidados en este trabajo de suficiencia. Así mismo una mención especial al Mg.Ing. Edgar Avelino Marcelino Tarmeño por su asesoría brindada y a la Ing,Zanhy Valencia por su apoyo.

Finalmente, una mención a mis compañeros, nosotros hemos compartido muchos momentos en este largo proceso y ahora podemos ver nuestro esfuerzo reflejado en nuestra vida profesional.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	ix
INTRODUCCION	xi
CAPÍTULO I: Planteamiento del Problema	12
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	12
1.2. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	13
1.3. DELIMITACIÓN DEL PROYECTO.....	14
1.3.1. Teórica	14
1.3.2. Temporal.....	14
1.3.3. Espacial	14
1.4. FORMULACIÓN DE PROBLEMA	15
1.4.1. Problema General.....	15
1.4.2. Problemas específicos	15
1.5. OBJETIVOS.....	16
1.5.1. Objetivo General	16
1.5.2. Objetivo Especifico	16
CAPÍTULO II: Marco Teórico	17
2.1. ANTECEDENTES	17
2.1.1. Antecedentes Internacionales	17
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	19

2.2. BASES TEÓRICAS	21
2.2.1. Suelo contaminado:	21
2.2.2. Contaminación de Suelos:	21
2.2.3. Metales Pesados:.....	22
2.2.5. Efecto de los metales pesados en el suelo.....	22
2.2.6. Movilización de metales pesados en el suelo	23
2.2.7. Plomo (Pb)	24
2.2.8. Brassicaceas.....	32
2.2.9. Brassica juncea.....	34
2.2.10. Técnicas de Remedación del suelo:	35
2.2.11. Mecanismos de tolerancia a metales pesados de las plantas. 40	
2.2.12. Fenología	42
2.2.13. Humus de lombriz	44
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	45
2.3.1. Ápice.....	45
2.3.2. Apoplasto	45
2.3.3. Calidad de suelos.....	46
2.3.4. Escala BBCH.	46
2.3.5. Evapotranspiración.	46
2.3.6. Fotoperiodo.....	46
2.3.7. Fitopatología.	46

2.3.8. GPS.	47
2.3.9. Meristemo.	47
2.3.10. Monocotiledónea.	47
2.3.11. Morfología Vegetal.	47
2.3.12. Muestra simple.	47
2.3.13. Punto de muestreo.	48
2.3.14. Semilla.	48
2.3.15. Textura de suelo.	48
2.3.16. Vacuola.	48
CAPÍTULO III: Desarrollo del Trabajo de Suficiencia	49
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	49
3.1.1. Localización geográfica del área de extracción	49
3.1.2. Ubicación del área de extracción	51
3.2. MATERIALES, HERRAMIENTAS Y EQUIPOS.....	52
3.2.1. Materiales	52
3.2.2. Equipos.....	53
3.3. PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS.....	53
3.3.1. Diseño experimental	55
3.3.2. Aleatorización de las muestras	55
3.3.2. Procedimiento Experimental	56
3.3.3. Análisis estadístico e interpretación de los datos	64

RESULTADOS Y DISCUSIONES	65
CONCLUSIONES.....	89
RECOMENDACIONES	91
BIBLIOGRAFÍA	92
ANEXO.....	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Ubicación a nivel provincial	50
Figura 2.Ubicación del distrito de Coaylo.....	50
Figura 3.Pasivos ambientales de la Ex Compañía minera Cobre Cata Acaril	51
Figura 4.Vías de Acceso a la zona de extracción	52
Figura 5.Área de Potencial Interés	54
Figura 6.Muestreo de suelo	57
Figura 7.Siembra de semillas en los maceteros	60
Figura 8.Porcentaje de germinación en cada tratamiento	65
Figura 9. Germinación en el T1R1	72
Figura 10.Días evaluados en la 2° repetición de cada tratamiento	85
Figura 11.Días evaluados en la 3° repetición de cada tratamiento	86
Figura 12.Prueba de Kruskal-Wallis	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Crecimiento fenológico de la Brassica juncea	34
Tabla 2. Taxonomía de la Brassica juncea	35
Tabla 3. Condiciones Físicas mínimas del humus de lombriz.....	45
Tabla 4. Tipo de tratamientos	55
Tabla 5. Resultado del diseño de bloques al azar	56
Tabla 6. Puntos de muestreo.....	57
Tabla 7. Punto de muestro para el Tratamiento N°1	58
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos del suelo y el método empleado	58
Tabla 9. Metodología del análisis de metales pesados en suelo	59
Tabla 10. Escala de Estadios crecientes por toxicidad de metales pesados Cadmio y Plomo (Hack. Ex T. Durand & Schinz).....	62
Tabla 11. Escala de Estadios crecientes por toxicidad de metales pesados Cadmio y Plomo de cada tratamiento	66
Tabla 12. Escala de reacción de la planta ante el metal pesado	66
Tabla 13. Resumen de las fisiopáticas presentadas en la segunda repetición de cada tratamiento.....	68
Tabla 14. Resumen de las fisiopáticas presentadas en la tercera repetición de cada tratamiento.....	69
Tabla 15. Resultados del T1R2	73
Tabla 16. Resultados del T1R3	75
Tabla 17. Resultados del T2R2	77
Tabla 18. Resultados del T2R3	77
Tabla 19. Resultados del T3R2	79
Tabla 20. Resultados del T3R3	79

Tabla 21. Resultados del T4R2	81
Tabla 22. Resultados del T4R3	82
Tabla 23. Resultados del T5R2	83
Tabla 24. Resultados del T5R3	84
Tabla 25. Temperatura promedio del suelo	86
Tabla 26. Resumen de contrastes de hipótesis	87
Tabla 27. Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	87

INTRODUCCION

En la actualidad, una de las problemáticas ambientales son los suelos contaminados por metales pesados. La concentración de metales pesados tiene un gran significado como indicadores de la calidad de los suelos debido a su toxicidad y a su acumulación en los ecosistemas.

El plomo es un metal pesado que por sus propiedades perjudica el desarrollo de las plantas que son cultivadas en suelos contaminados, por consiguiente, su productividad disminuye generando pérdidas económicas a los agricultores. Sin embargo, en el país existen diversos tipos de plantas que son consideradas hiperacumuladoras por su gran tolerancia y capacidad de acumular metales pesados. Una de estas plantas son las Brassicaceas que es una familia de hortalizas, entre ellas destacan la *Brassica juncea* que es empleada en la fitorremediación de suelos contaminados.

Por ello, acorde con la importancia se debe conocer los efectos del plomo en los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*, por lo que es necesario evaluar las fisiopatías que presentan al ser sembradas en suelos contaminados, para así poder determinar a posterior su capacidad fitorremediadora.

CAPÍTULO I: Planteamiento del Problema

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Según Jerez (2013), la contaminación de suelos representa un riesgo importante en el consumo humano de hortalizas; en la actualidad distintas áreas de cultivos están contaminados por metales pesados; el origen de la contaminación puede ser por aguas residuales, relaves mineros, entre otros.

Los metales pesados presente en suelos contaminados son varios, uno de ellos es el plomo, que en considerado una problemática ambiental actual de gran importancia por la movilidad y biodisponibilidad de este contaminante que depende de los componentes bióticos y abióticos del suelo. (Ferreyroa,2016, p.6)

La presencia de metales pesados sin función biológica, que altera la fisiología de la planta tiene consecuencias en la morbilidad, por lo que también afecta la salud de los agroecosistemas (Bhopal, 2008), lo que provoca disminución de la productividad de los cultivos que se encuentran afectados por dichos contaminantes. A pesar de las consecuencias de metales pesados, existe un vacío de los conocimientos relacionado al estrés por presencia y acumulación de estos en hortalizas. Con este trabajo de investigación se pretende evaluar los efectos del Pb en el desarrollo fenológico de la *Brassica juncea*, así poder identificar los daños a nivel histológico y relacionarlos al nivel de estrés que fue inducido las plantas de esta especie.

1.2. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En el Perú, existe zonas de cultivo con suelos contaminados por metales pesados afectando especialmente a las hortalizas. Ferreyroa (2016) refiere que el plomo presenta una movilidad y biodisponibilidad que depende de los componentes bióticos y abióticos del suelo. Según Diez (2009), en la actualidad existen distintas tecnologías para remediar y recuperar suelos contaminados; siendo la biorremediación una tecnología que utiliza los procesos naturales inducidos en ambientes que presentan contaminantes para producir la degradación o remoción; existe varios tipos de biorremediación, uno de ellos es la fitorremediación.

López, Gallegos, Flores y Rojas (2005) indican que la fitorremediación es una tecnología eficiente, factible y de bajo costo para la recuperación de suelos contaminados, lo que favorece el éxito de esta técnica es la existencia de especies hiperacumuladoras. Es necesario conocer el desarrollo fenológico de dichas especies y los efectos que el contaminante puede tener en este proceso.

El trabajo de suficiencia profesional fue de tipo experimental; consiste en la evaluación de los efectos en el desarrollo fenológico de la *Brassica juncea* por la concentración de Pb presente en suelos contaminados; el objetivo es describir los síntomas crecientes en sus características morfológicas por intoxicación con el diseño a escala valorativa de daños crecientes. Los resultados de la ejecución de esta investigación servirán de base para conocer el grado de respuesta de los tejidos vegetales de la planta a este contaminante, para que después se pueda proponer una fitorremediación empleando esta especie, el método de fitorremediación que emplea las *Brassica juncea* es a través de la rizoextracción,

así poder disminuir los suelos contaminados por dichos contaminantes que existe a lo largo del territorio nacional.

1.3. DELIMITACIÓN DEL PROYECTO

1.3.1. Teórica

Para alcanzar un mayor grado de eficiencia en la fitorremediación, la elección de una planta hiperacumuladora es importante, una de estas especies es la *Brassica juncea*, es necesario evaluar los efectos en los primeros estadios fenológicos y en las características morfológicas por la concentración de plomo presente en suelos contaminados, se analizó las alteraciones que provoca este metal por su nivel de toxicidad, persistencia en los suelos y su bioacumulación en la cadena trófica.

1.3.2. Temporal

El tiempo que demora la investigación fue en función al desarrollo vegetativo de la *Brassica juncea*, se evaluó en los primeros estadios fenológicos que abarca desde el periodo de germinación hasta el estadio donde la especie tendrá su segundo par de hojas, la investigación será en total 20 días, durante este periodo es donde intensifican los efectos del plomo que provoca el desequilibrio de los nutrientes en la especie, lo que inhibe su desarrollo normal e incluso produce la muerte de la planta.

1.3.3. Espacial

La investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur con muestras de suelo contaminado de la zona de Santa

Rosa de Cata en el distrito de Coayllo; el origen de la contaminación es por la actividad minera que existía en la zona, el plomo como contaminante representa un problema a nivel nacional porque ocasiona el deterioro de la calidad de los suelos de uso agrario; el propósito de la investigación de dilucidar los efectos más inmediatos de la actuación del plomo en las plantas.

1.4. FORMULACIÓN DE PROBLEMA

1.4.1. Problema General

- ¿Cómo influyen en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea* cultivados en suelos contaminados por plomo?

1.4.2. Problemas específicos

- ¿De qué manera las diferentes concentraciones Pb en el suelo afectan en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*?
- ¿De qué manera la concentración de Pb en el suelo afecta las características morfológicas de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*?
- ¿De qué manera la dosis de humus de lombriz disminuye los efectos de la concentración de plomo en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*?

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo General

- Evaluar los efectos en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea* cultivados en suelos contaminados por plomo.

1.5.2. Objetivo Especifico

- Evaluar los efectos de la concentración de Pb en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*.
- Evaluar los efectos del Pb las características morfológicas de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*
- Determinar la dosis de humus de lombriz necesario para disminuir los efectos de la concentración de plomo en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*

CAPÍTULO II: Marco Teórico

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Roblero (2013), en la investigación titulada "*Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados en La Comarca Lagunera*" en México, se utilizaron macetas de poliuretano donde se colocó el suelo contaminado por plomo, donde se aplicaron 100 gramos de estiércol, lombricomposta, perlita, peatmost y se sembró 1.5 gramos de semilla de pasto RyeGrass por maceta. En cada maceta se realizó aplicaciones durante el ciclo del cultivo vía foliar y se evidencio que las plantas no presentaron plagas por eso no fue necesario aplicar insecticidas. Concluyendo que la concentración de plomo presento una disminución a causa de la absorción, lixiviación y dilución; de los tratamientos realizados con diferentes acondicionadores, el tratamiento con lombricomposta fue el que más favoreció a la absorción del plomo por el *Ryegrass*. (1544.54 mg/Kg de Pb). La Conductividad Eléctrica y la concentración de Plomo influenciaron en el desarrollo de la planta y esta presento efectos adversos, sin embargo, alcanzó una absorción considerable de plomo. El aporte de esta investigación fue la elección del acondicionador, de acuerdo con la influencia que presenta en la remoción de metales pesados, siendo la lombricomposta el mejor acondicionador.

Peláez *et.al* (2014), realizó la investigación titulada "*Toxicidad de cadmio y plomo en Pasto Tanner (Brachiaria arrecta)*", en la Universidad de Nariño en Colombia, donde se doparon plántulas sanas de 20 días de edad que fueron cultivas en sistema hidropónico, estas plantas fueron sometidas a estrés abiótico

con los tratamientos de sales de CdCl_2 en concentración de 10 ppm, y de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 500 ppm, respectivamente. La investigación concluyó que los metales pesados Cd y Pb resultaron tóxicos sobre las plantas de *Brachiaria arrecta* lo cual se traduce en alteraciones de características morfoanatómicas, se aprecia en deformaciones de tejidos en raíces, tallos y hojas, por consiguiente, este estrés metalífero suprime funciones básicas en esta planta como la nutrición, el transporte de nutrientes esenciales y fotosíntesis, la división celular y el crecimiento de los tejidos fundamentales.

Ferreyroa (2016), investigó: “*Retención, biodisponibilidad y remediación de Pb en suelo: efectos de la interacción suelo – planta (Brassica napus) y bioacumulación*”, en Escuela de Post Grado de la Universidad de Buenos Aires en Argentina; se analizó la interacción de entre la *Brassica napus* cultivada en un suelo contaminado por Pb. Se llegó a las siguientes conclusiones que el plomo se asocia rápidamente con las fracciones minerales, quedando mínima fracción en forma soluble e intercambiable. La mayor concentración de Pb fue en la rizosfera de la *Brassica napa*, especialmente de Pb en fracción mineral y en cuanto al área foliar; las hojas jóvenes presentaron una mayor absorción de Pb y se observó efectos adversos en la ultraestructura celular (especialmente en cloroplastos).

Kathal *et al.* (2016), en la investigación titulada “*Phytoextraction of Pb and Ni from the Polluted Soil by Brassica juncea L.*”, en la Universidad de Delhi en la India; se recolectaron muestras de suelo y plantas hiperacumuladoras para remediar el plomo (Pb) y el níquel (Ni). Se concluye que *Brassica juncea* mostró absorción eficiente de Pb y Ni de suelo contaminado; por lo tanto, actúa como

buen hiperacumulador disminuyendo del contenido de metales pesados en el suelo. Así mismo, la utilidad de *Brassica juncea* también se puede explorar en la rotación de cultivos de alimentos para control de biomagnificación de metales tóxicos en la cadena alimentaria.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Torres (2018), hizo una investigación “*Factor de bioconcentración y traslocación de especies altoandinas para suelos contaminados con metales pesados provenientes de la Planta concentradora de Mesapata, en condiciones de invernaderos, 2015 – 2016*” en Huaraz, Ancash; se utilizaron tres especies vegetales altoandinas, *Stipa ichu*, *Pennisetum clandestinum* y *Medicago lupulina* L., para suelos contaminados con metales pesados (Pb, Cd, Ni, Zn, y Cu) en condiciones de invernadero. La *Stipa ichu* (Ruíz y Pav.) Kunth fue propagada por semillas con un porcentaje de sobrevivencia al 100%., *Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov por estolones con 98.52% de sobrevivencia y *Medicago lupulina* L. por esquejes juveniles con el 100 % de sobrevivencia, respectivamente sometidos a distintos tratamientos.

Cotrina et al. (2018), realizó la investigación “*Influencia del Amaranthus hybridus en la remoción de metales pesados en suelos contaminados por la minería en Shiracmaca – Huamachuco, La Libertad*” en la Universidad César Vallejo, se obtuvieron muestras de suelo contaminados con metales pesados a causa de la minería para evaluar si la *A. hybridus* tiene la capacidad de remover metales pesados. Una vez realizado los análisis Pre y Post tratamiento de las cuales el As y Pb tiene una mayor concentración de metales pesados de 3937

mg/kg y 5008 mg/kg, respectivamente, mientras que Cu tiene una concentración de 147,9 mg/kg, en el análisis inicial de las muestras; se observó que después de realizar el tratamiento con la especie *A. hybridus* las concentraciones de los metales disminuyeron.

Jara *et al.* (2014), en su investigación denominada “*Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados*”, en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; se evaluaron 20 tratamientos con un diseño factorial completo, se emplearon 5 especies altoandinas y 4 sustratos con 30%,60% y 100% de relave de mina y suelo sin relave.La investigación llego a las siguientes conclusiones que la *Brassica Rapa*, presento los máximos valores de absorción de plomo, zinc y cadmio en la zona radicular.La especie acumulo 758.8 mg/Kg, 550mg de zinc y 4.9 mg/Kg de cadmio en el tratamiento de mayor porcentaje de relave. Además, demostró un índice de tolerancia intermedio en las distintas concentraciones del relave minero y se determinó que la especie *Brassica Rapa* posee las propiedades de absorber metales en la zona radicular, independientemente del nivel de concentración del contaminante. Este significo un aporte importante a Brassicaseas almacenan los metales pesados.

Grandez (2017), hizo una investigación “*Remoción de Cadmio y Plomo en suelos a orillas del Rio Mantaro, Junín, mediante fitorremediación con girasol (Helianthus annus) y maíz (Zea mays) usando enmiendas*”, en la Universidad Cesar Vallejo; se obtuvieron muestras de suelo contaminado con plomo y cadmio para realizar 6 tratamientos con distintas enmiendas, más 2 testigos sin ningún

tipo de enmiendas, cada tratamiento tenía 3 repeticiones dando un total de 24 pruebas. Para esta investigación se emplearon la *Helianthus annuus* y *Zea mays* que son dos especies consideradas hiperacumuladoras. Se concluyó que la remoción de Pb en suelos contaminados es eficaz aplicando de *Zea mays* (maíz) con distintos tipos de enmiendas orgánicas, aplicando la fitorremediación. Así mismo, el *Zea mays* (maíz) evidenció un alto porcentaje de absorción de plomo en muestras con enmiendas combinadas (compost más humus), dándose su mayor acumulación en la zona radicular, sin embargo, presentó problemas en su desarrollo vegetativo.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Suelo contaminado:

Es el suelo cuyas características químicas, han sido modificadas negativamente por la presencia de sustancias contaminantes situadas por la actividad antrópica, la concentración de dichas sustancias representa un riesgo para la salud humana o el ambiente.

2.2.2. Contaminación de Suelos:

Seoáñez (como se citó en Chávez,2014) indica que el suelo es un medio multifásico, que puede verse afectado por fenómenos físicos, químicos, biológicos y climáticos.

De forma natural se puede encontrar distintas sustancias, pero también existe sustancias antropogénicas, que provienen de la minería, industrias y actividades agrícolas, también contaminación por malos manejos en la irrigación de los suelos por ejemplo el riego con aguas residuales (Chávez,2014). Los

contaminantes principales encontrados son los metales pesados como el plomo, cromo, arsénico, zinc, cadmio, cobre, mercurio y níquel.

2.2.3. Metales Pesados:

Jerez (2013) define el término metales pesados como un grupo de metales y metaloides que se le relaciona con un alto nivel de contaminación ambiental y riesgos para la salud.

Estos elementos poseen una densidad mayor de los 5 g/cm³. Los metales presentes en los suelos son el arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), mercurio (Hg), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn).

En la naturaleza los metales pesados los encontramos como cationes, excepto algunos metaloides como el arsénico que se encuentran como aniones con oxígeno.

Seoáñez (como se citó en Chávez, 2014) menciona que la distribución como la abundancia de estos elementos en el suelo varía de acuerdo a la roca madre y los demás orígenes como la actividad volcánica reciente o pasada. Existen zonas donde se presenta de manera natural concentraciones elevadas que pueden representar un riesgo para los seres vivos de la zona.

2.2.5. Efecto de los metales pesados en el suelo

En el país, los suelos contaminados por metales pesados se consideran uno de los principales problemas ambientales; la elevada concentración de dicho contaminante provoca efectos adversos en las propiedades físicas, químicas y biológicas. Zhang y Han (2008) afirman que algunos de los efectos son: la

variación del pH del suelo, la disminución del porcentaje de materia orgánica y nutrientes; en las propiedades biológicas presentan el cambio de la diversidad microbiana presente en la rizosfera.

Los metales pesados alteran las propiedades de los suelos, el termino empleado es la “Polución de Suelos” (Martin, 2000).La materia orgánica es el factor que más influencia tiene en la sorción y en la formación de complejos metálicos que puede ser asimilados en el suelo. Estos complejos metálicos pueden funcionar para suplir las carencias que ciertas plantas presentan. (Pineda,2014).

2.2.6. Movilización de metales pesados en el suelo

Según Pagnelli *et al.* (2004) os metales pesados tienen distintas formas de moverse en el suelo mediante mecanismos biológicos y químicos. Los metales pesados se movilizan de manera lenta entre los componentes de la fase sólida del suelo. Algunos factores que influyen en la movilización de los metales pesados son:

- Las características del suelo: pH, potencial redox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de cambio, materia orgánica y textura.
- El origen de la contaminación.
- Según Sahuquillo *et al.* (2003) las condiciones medioambientales que influyen son: proceso de acidificación, variación de las condiciones de reducción y oxidación, así como la temperatura y humedad relativa.
- Garcia y Dorronso (como se citó en Purga S., Sosa M. ,Lebgue, T.,Quintana, C. y Campos, A. ,2006) indican que existen diferentes

vías: los metales pesados pueden quedarse retenidos en el suelo, ya sea diluidos en la fase acuosa o son adsorbidos formando complejos metálicos; esto es influenciado por la materia orgánica del suelo pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; por medio de la volatilización pasan a formar parte de la atmósfera; la microbiota juega un rol importante en la movilización de estos contaminantes en el suelo.

Absorción y translocación de metales pesados en las plantas

Según Lasat (2000) especies vegetales desarrollan mecanismos que le permiten la absorción, traslocación y acumulación de nutrientes, no obstante, algunos metales y metaloides no esenciales son absorbidos, traslocados y acumulados en la planta; esto se debe a que presentan un comportamiento electroquímico similar a los nutrientes básicos.

La absorción de metales pesados por las especies vegetativas es el primer eslabón de la biomagnificación de metales pesados en la cadena alimenticia, cabe precisar que el movimiento de los metales desde la solución existente en el suelo a la raíz de la planta, a través de las membranas corticales de la raíz después se transporta a la xilema llegando así desde las hojas hacia los tejidos de las partes cosechables de la planta (semillas, tubérculos y frutos) por el floema (Kabata-Pendias, 1994).

2.2.7. Plomo (Pb)

El plomo se ubica en el grupo IVA (metales) en la tabla periódica, es un metal de color gris azulino presente en la corteza de la tierra, generalmente se

obtiene de la galena (PbS), la anglesita (PbSO₄) y el carbonato de plomo (PbCO₃). El Pb se encuentra especialmente en forma de Pb²⁺ y la oxidación depende de factores como: la temperatura, el pH, la humedad y el potencial reducción y oxidación (Sierra,2006).

Los principales de usos del plomo son las refinerías, fundiciones, industrias metalmeccánicas, fabricación de baterías para automóviles y fertilizantes.

Toxicidad del Pb

Uno de los principales contaminantes es el Pb, representa un gran riesgo, el plomo tiende acumularse en el agua, suelos y sedimentos. En los seres humanos, este metal cuando ingresa al cuerpo causa problemas en el sistema nervioso, no existe evidencia que produzca efectos teratogénicos o carcinógenos. (Bayon,2015). La intoxicación de plomo en niños ha presentado evidencia de reducción de la inteligencia, pérdida de memoria a corto plazo, discapacidad del aprendizaje y problemas de coordinación.

Para poder determinar de manera precisa la concentración de Pb que se encuentra en los suelos es necesario realizar un análisis del área afectada, teniendo en cuenta los factores geológicos e hidrológicos, así determinar cuánto es la presencia de Pb natural y el grado de contaminación antropogénica, en caso de que estos superen los Estándares de Calidad Ambiental para suelo, se proceda a realizar un proceso de remediación.

Especiación química del Pb

Las condiciones del medio, influyen en el estado de oxidación del Pb: con valencia +2 o +4, siendo el ion Pb²⁺, el que mayor estabilidad tiene en el

ambiente. Según Villagrana (2006), la especiación del Pb en la solución presente en el suelo, se determinan por las propiedades fisicoquímicas del existentes en el sistema, como el pH, potencial redox, presencia de otros iones, temperatura, etc. Los óxidos de hierro, materia orgánica y arcilla tienen una elevada capacidad de adsorción de Pb. (Rábago,2011, p.92). Los óxidos de hierro presentan una elevada afinidad con el Pb a medida que se incrementa el contenido. (Violante *et al.* ,2003).

Ponizovsky y Tsadillas (como se citó en Rábago,2011) indica que la arcilla interviene en la sorción del plomo; debido al efecto de una reacción de cambio iónico en la fracción arcilla, con desplazamiento de cationes en cantidad equivalente a la de Pb sorbido, donde se establecen uniones específicas fuertes arcilla-metal.

Según el pH del medio varía la forma que se encuentra el Pb. Conforme el pH se eleva el Pb^{2+} inicia un proceso de hidrólisis formando distintos hidro-compuestos. El $Pb(OH)_2$ presenta concentraciones representativas a pH por encima de 9, mientras que $PbOH^+$ predomina en el rango de pH entre 6 y 10. Un pH elevado del suelo precipitaría el Pb como hidróxido, fosfato, o carbonato, o favorecería la formación de complejos organometálicos. Según Serrano *et al.*(2005) la acidez y la solubilidad tienen una relación directamente proporcional.

Sorción y desorción de Pb

Según Rábago (2011) los componentes edáficos y la reacción de sorción de Pb es endotérmica y espontánea. El pH desempeña un rol principal en los procesos de sorción, este factor aumenta considerablemente la sorción hasta pH cercanos y/o superiores a 6.

En el proceso de adsorción de Pb, la capacidad de intercambio catiónico y el pH son las propiedades del suelo que tiene una mayor influencia; por ello los constituyentes primordiales que favorecen a la inmovilización del Pb es la materia orgánica y arcilla. (Adriano,1986).

Según Sauvé *et al.* (1997) el grado de polimerización y de las condiciones del suelo pueden incrementar o disminuir la solubilidad del Pb. La reducción del Pb en solución y en forma intercambiable son influenciados por la presencia de la materia orgánica. (Strawn y Sparks,2000).

Transporte de plomo en las plantas

La permanencia del Pb en el suelo se debe a la capacidad de sorción y/o formación de complejos con componentes inorgánicos y orgánicos del suelo. La acumulación de Pb es principalmente en la superficie por lo que las plantas con raíces de poca profundidad están expuestas a concentraciones con un porcentaje más elevadas, las especies vegetativas acumulan el Pb en diferentes partes y en diferentes concentraciones. (Sánchez ,2017).

Verma y Dubey (2003) indica:

Según Verma y Dubey (2003), el movimiento del Pb, principalmente se realiza en los apoplastos de la raíz en forma radial mediante el córtex y tiende a acumularse en una zona cercana a la endodermis. En las plantas existe una barrera parcial entre la zona radicular y la aérea, debido a esto la mayoría de investigaciones indican que la mayor acumulación de plomo es en la zona radicular comparada con la de la parte aérea.

A continuación, especificaremos la retención del plomo en el apoplasto:

A) Pared Celular

La retención en las raíces de este contaminante se basa en la unión de Pb^{2+} hacia iones con sitios intercambiables sobre la pared celular, la precipitación formada se llama carbonato de Pb.

B) Membrana plasmática

Según García (2006) indico que la acumulación de mayor significancia de altas concentraciones de Pb son las plantas dicotiledóneas que en las monocotiledóneas, en particular en la zona radicular, los canales catiónicos existentes en la membrana plasmática, particularmente canal del calcio es el medio de transporte de Pb por medio. Los bloqueadores de los canales del calcio tienen la capacidad de inhibición de la proliferación celular; sin embargo, la carencia de calcio provoca la apoptosis o muerte celular, cabe precisar que en la estructura vegetal el calcio bloquea el transporte de plomo dentro de la zona radicular, lo que disminuye su nivel de toxicidad.

Antosiewicz (como se citó en García,2010) afirmo que la concentración de Pb varía de acuerdo a los órganos de la planta y la tendencia que presenta es el decrecimiento en el orden que se menciona a continuación: raíces, hojas, tallos, inflorescencia y semillas. Según la especie de planta se presenta variaciones interespecíficas.

Efectos fisiológicos del plomo

Burton *et al.* (como se citó en García,2010) indico que las elevadas concentraciones de plomo ocasionan desordenes en las actividades fisiológicas

en la planta, hasta eventualmente matar algunas células. Existen síntomas visuales no específicos como la inhibición rápida del crecimiento radicular, reducción del área foliar, clorosis y aparición de manchas pardo-rojizas fenólicas en tallos, pecíolos y hojas, y necrosis foliar; según Burton (1984) especifica que estos son los principales síntomas.

Los síntomas específicos con la reducción del porcentaje e índice de germinación, de la proporción longitud radicular/parte aérea, así como el peso seco de la parte aérea y zona radicular.

Existe varias investigaciones acerca de los efectos negativos del plomo en plantas, esto varía de acuerdo a las concentraciones:

A) Alta concentraciones de Pb

- Según Verma y Dubey (2003) un síntoma es la disminución del 14 al 30 % en la germinación de semillas de arroz y reducción del crecimiento de semillas de 13 a 45 % con 1mM Pb.
- Inhibición del crecimiento de la raíz y actividad enzimática.

B) Bajas concentraciones de Pb

- Incremento de plomo en la zona radicular.
- El desarrollo y extensión de la raíz principal presenta un mayor grado de sensibilidad.

Efectos ultraestructurales del plomo

Yang *et al.* (2000) aseguran que las investigaciones realizadas sobre crecimiento radicular, división celular, morfología cromosómica y de los nucléolos

de las células de las puntas de raíz, pusieron en manifiesto la inhibición del crecimiento radicular.

Efectos Bioquímicos del plomo

Los principales efectos de plomo a nivel bioquímico es la disminución de los niveles del contenido de proteínas en tejidos de composición lipídica y del crecimiento de la parte aérea.

A) Efectos sobre las actividades enzimáticas

El Pb afecta las vías metabólicas en particular a las actividades de un extenso rango de enzimas. La inhibición del 50 % de la mayoría de enzimas se produce a una concentración de entre 10^{-5} y $2 \cdot 10^{-4}$ M de plomo.

Levina (como se citó en García,2010) indico que la interacción entre el Pb y los sulfhidrilo (.SH) ocasionan la inhibición en la actividad enzimática. Sin embargo, esto puede representar un papel importante en el tratamiento de este contaminante.

B) Efectos sobre la fotosíntesis

El plomo ocasiona diversos efectos negativos en el proceso de fotosíntesis en las especies vegetativas alterando los cloroplastos por su toxicidad. A continuación, se menciona los principales efectos:

- Reducción de la tasa fotosintética
- Alteración de la ultraestructura del cloroplasto
- Dificultad en el transporte de electrones

- Inhibición de actividades enzimáticas del ciclo de Calvin.
- Carencia del CO₂ como resultado de cierre de estomas.

Los principales indicadores a nivel de órganos de la planta es el cloroplasto debido a la alteración de la absorción de elementos esenciales (Fe y Mg) provocado por el Pb.

C) Efectos sobre la absorción de nutrientes

Según Garcia (2006), existe una relación indirecta debido a la alteración mineral dentro de los tejidos que es ocasionada por la presencia de Pb. Las plantas en desarrollo evidencian una alteración en los porcentajes de nutrientes minerales ocasionados por este metal pesado, en la zona radicular niveles de Ca⁺², Fe⁺³ y Zn⁺² decrecen después de la exposición a Pb.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) las funciones de los elementos son las siguientes:

- Calcio (Ca⁺²)

Tiene un rol esencial en las paredes celulares debido a que conserva la integridad de la membrana, además tiene un rol importante en la división celular y regula la absorción de nutrientes. La insuficiencia se muestra especialmente en los órganos jóvenes en las hojas mediante la necrosis y también se manifiesta en el crecimiento de ápices radiculares.

- Hierro (Fe⁺³)

Este elemento es primordial en la formación de la clorofila en las células de las plantas; aun cuando la molécula de clorofila no está

conformada principalmente por Fe, son muy ricos en este elemento. Además, tiene un papel como activador de procesos bioquímicos como la respiración, la fotosíntesis y fijación de nitrógeno.

La insuficiencia provoca clorosis entre las nervaduras en las hojas más jóvenes, se presenta totalmente una coloración amarilla y el color verde “clásico” solo se visualiza en las nervaduras.

– Zinc (Zn^{+})

Es un componente de diversos sistemas de enzimas importantes y controla la síntesis de los reguladores de crecimiento vegetal como la auxina, esta sustancia es necesaria para el alargamiento de las células y tejidos. La carencia causa clorosis en las hojas jóvenes, el retraso de crecimiento del ápice y disminución de la producción de semillas.

2.2.8. Brassicaceas

La familia de las Brassicaceas son hierbas anuales o perennes, subarborescentes o raramente arbustos; con tricomas simples, bifurcados, estrellados o con múltiples ramificaciones. Las características de esta familia son las siguientes:

- Los tallos son delgados, verdosos o coloreados, típicamente herbáceos, o algunas veces leñosos en las especies que se desarrollan a grandes altitudes.
- Las hojas son de morfología variada; las basales, generalmente dispuestas en rosetas, y las caulinares, alternas o en ocasiones opuestas.
- Las flores son en racimos, perfectas, actinomorfas, posee un cáliz, 4 sépalos; 4 pétalos; en disposición en cruz (de allí el nombre de

Cruciferae). Tiene 6 estambres y su ovario súpero, carpelos, 2 soldados, dividido en dos cámaras por falso tabique placentario.

- Los frutos son tipo cápsula de morfología muy variada, alargado o silícula, o pequeño y comprimido lateralmente o silícula.
- Las semillas son de color voluble entre anaranjado claro, a marrón oscuro; superficie lisa o diversamente reticulada; embrión carnoso, rico en aceites; dispuestas en una o dos series en cantidades variables.

Según Monsalve (2003) la familia Brassicaceae comprende aproximadamente 350 géneros y 3000 especies, distribuidas a lo largo del planeta, pero especialmente en las regiones con climas templados. En el Perú se encuentran registrados 27 géneros y 104 especies de los cuales 2 géneros y 28 especies son endémicas.

Algunas de las especies de la familia de las brassicáceas son: *Brassica oleracea*, que establece un grupo de variedades de cultivo muy empleadas (repollo, coliflor, coles de Bruselas, brócoli, brécol, lombarda); *Sinapis alba*, mostaza blanca; *Raphanus sativus*, el rábano; *Eruca sativa*, la rúcola, *Brassica juncea*, mostaza de la india. Existe otras especies cultivadas como plantas ornamentales, como la *Matthiola incana*, llamado alhelí encarnado, en realidad, existen variedades con flores violetas, rojas o blancas. A continuación, se muestra una lista de las distintas especies cultivables de Brassicáceas que existen:

- Col de Bruselas (*Brassica oleracea* L. grupo *Gemmifera*)
- Coliflor (*Brassica oleracea* L. grupo *Botrytis*)
- Brócoli (*Brassica oleracea* L. grupo *Italica*)
- Colinabo (*Brassica oleracea* L. grupo *Gongylodes*)
- Nabo (*Brassica napus* L.)

- Rábano (*Raphanus sativus* L.)
- Mostaza Negra (*Brassica nigra*)
- Mostaza de la India (*Brassica juncea*)

Fenología de las Brassicaceas

El crecimiento fenológico de la familia de las Brassicaceas es el siguiente:

Tabla 1.
Crecimiento fenológico de la *Brassica juncea*

Especie	Crecimiento fenológico					
	Emergencia o germinación	Cotiledones horizontales	Primer par de hojas	Segundo par de hojas	Tercer par de hojas	Floración
Brassicaceas*	8	16	24	32	48	72

(*) duración de cada estado está en días.

Fuente: (Zuluaga, Delgado , Padilla, & Quiñones, 2009)

2.2.9. *Brassica juncea*

La mostaza de la India (*Brassica juncea*) es una planta de la familia de las brasicáceas, cuyo tamaño oscila entre 30 y 100 centímetros de altura, Tallos angulados, ramificados, posee hojas basales, entre 10 y 20 cm de largo, sus hojas superiores son alternas, sésiles o con pecíolo corto, de forma ovalada y lanceolada. Las flores en racimos terminales alargados. Sépalos lanceolado-elípticos, color verde oscuro, de 4-5 mm de largo. Pétalos obovados, unguiculados, color amarillo, de 7-10 mm de largo. Silícuas, glabras, 7-10 mm de largo, porción estilar de 3-10 mm de largo. Las semillas de color marrón oscuro.

Tabla 2.
Taxonomía de la *Brassica juncea*

Subclase	Familia	Género	Especie
Dicotiledónea	Brassicaceae	<i>Brassica</i>	<i>Brassica juncea</i>

Fuente: (Zuluaga, Delgado, Padilla, & Quiñones, 2009)

Las partes utilizables de esta especie son:

- Hojas: se cocinan como verdura en la gastronomía africana, italiana, de la india, China y en Japón. Posee un sabor parecido a la col pero más intenso.
- Semillas: Para la extracción de aceite, este aceite se utiliza principalmente en India y posee un característico sabor picante.

La composición química de la *Brassica juncea* está compuesta por: proteína, grasas glicolípidos, isotiocinatos, minerales, vitaminas y ácido oxálico

La *Brassica juncea* es considerada una especie hiperacumuladora que extrae y posee una captación sustancial y predominante intracelular en la punta de la raíz. (Meyers, Auchterlonie, Webb, & Wood, 2008) Posteriormente la especie es cosechada y gestionada de manera adecuada, además de ser fácil de implementar y de bajo costo. Esta especie previene la erosión del suelo así evitando la contaminación.

2.2.10. Técnicas de Remediación del suelo:

Según Diez (2009) los efectos negativos de los metales pesados en el suelo, en la actualidad existen diferentes tecnologías para la remediación de suelos contaminados con metales pesados.

Según López *et al.* (2005) las técnicas de remediación se pueden realizar in situ (en el sitio) ó ex situ (fuera del sitio contaminado), estas técnicas de tratamiento buscan alterar la composición de los contaminantes hasta que su grado de toxicidad se reduzca o deje de ser contaminante, el uso de las técnicas en algunas ocasiones genera alteraciones en el estado del suelo, cabe mencionar que ninguna técnica es eficiente al 100% lo que genera impide recuperar el uso del suelo antes de la contaminación.

Las técnicas de remediación tienen sus limitantes porque genera cambio de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Se clasifican en cuatro categorías: extracción, químicas, físicas y biológicas. Entre las diferentes técnicas la remediación biológica o biorremediación está surgiendo como una tecnología prometedora, consiste en inducir procesos naturales en sitios contaminados para generar procesos de degradación o remoción de ciertos contaminantes, un tipo de biorremediación es la Fitorremediación.

Fitorremediación:

En relación a la fitorremediación Harvey *et al.* (2002) citado por S. López-Martínez *et al.* (2005) p.93 es una de las técnicas biológicas que en los últimos años ha captado la atención de los investigadores porque tiene como objetivo la degradación, asimilación, metabolización o desintoxicación de distintos contaminantes a través de la capacidad fisiológica y bioquímica de algunas plantas para absorber, retener, degradar o transformar sustancias contaminantes a formas menos tóxicas. Según Bernal y Carpena (2007) el tipo de proceso que realicen las plantas para remediar los suelos se pueden clasificar en:

- Fitoextracción: Las plantas acumuladoras absorben ciertas concentraciones de contaminantes en sus partes cosechables.
- Fitoestabilización: Las plantas alteran la composición de los contaminantes en su forma más estable, a su vez reducen su biodisponibilidad.
- Fitoimmobilización: La zona radicular de las plantas son usadas para la fijación o inmovilización de los contaminantes.
- Fitovolatilización: Las plantas permiten la eliminación de los contaminantes por medio de la volatilización a través de sus hojas.
- Fitodegradación: la asociación de las plantas y la microbioata presente en el suelo degradan los contaminantes presentes en el suelo.
- Rizofiltración: Las zonas radiculares son usadas para absorber y adsorber los contaminantes presentes en los cuerpos de agua.

Factores que influyen en la fitorremediación de suelos

Vangronsveld et al. (como se citó en Chávez,2014) afirman que existen factores que determinan el grado de efectividad de la fitorremediación estos son: la concentración del contaminante en el suelo, la accesibilidad de la zona radicular a los contaminantes y capacidad de las plantas a intercepción, absorción, acumulación y degradación de contaminantes sin presentar variaciones en su ciclo de vida (plantas acumuladoras).

A) Concentración del contaminante

Hazrat et al. (como se citó en Chávez,2014) La concentración de contaminante que presenta el suelo es una limitante, porque si el suelo posee altas concentraciones evita el crecimiento de las plantas o afecta su ciclo de vida. Cabe precisar que este comportamiento se presenta en

ciertas situaciones, por ejemplo, las especies conocidas como excluseras, almacenan los contaminantes en la zona radicular hasta que alcanza el valor umbral. Otro caso son las especies acumuladoras que absorben los contaminantes en sus partes cosechables.

B) Biodisponibilidad del metal pesado

Es uno de los factores de mayor importancia que establece el grado de toxicidad de un contaminante y la eficiencia del proceso de fitorremediación. Existe distintas formas de encontrar los metales pesados en el suelo, algunas de ellas son: iones intercambiables absorbidos en fase sólida e inorgánica del suelo, iones libres o componentes solubles.

Según Chávez (2014) la fracción que puede ser adsorbida por la planta está relacionada con los siguientes factores:

- Factores físicos: La textura y estructura del suelo influencia en la biodisponibilidad del metal, en la capacidad de vincular o adsorber dichos metales.
- Factores biológicos: Según Seoáñez (1999) la asociación plantas y microbioata presente en la zona radicular influye en la biodisponibilidad del metal. La degradación de metales pesados aumenta considerablemente si se favorece las condiciones para crecimiento de microorganismos (bacterias fotosintéticas o micorrizas).
- Factores químicos: Según Chávez (2014) el pH del suelo y la presencia de agentes quelantes en el suelo influyen en la biodisponibilidad. El pH representa un factor importante más importante relacionado con la solubilidad de los metales y su estabilidad, es decir que a medida que el pH disminuye se incrementa la disponibilidad. Existe agentes quelantes

naturales como los ácidos orgánicos y sustancias húmicas o artificiales, estos favorecen la disponibilidad del metal en el suelo.

C) Especies acumuladoras

La elección de la especie acumuladora es importante para lograr el mayor grado de eficiencia en la fitorremediación (Salas, 2007). Existen un aproximado de 400 especies de plantas con la eficacia para la remediación de suelos y aguas.

Van der *et al.* (como se citó en Chávez,2014) Las plantas hiperacumuladoras poseen las siguientes características: alto desarrollo de biomasa, gran tolerancia y capacidad de acumular metales pesados en sus partes cosechables, aún no se establecen los criterios para determinar a una especie como hiperacumuladora de metales, se tiene como base que la planta acumule al menos 1000 mg/Kg del metal en la materia seca es decir es sus partes cosechables y bajo condiciones naturales.

Fases de la Fitorremediación

Según Bonilla (2013) los mecanismos de Fitorremediaciónson los siguientes:

A) Absorción

La planta realiza la absorción de los metales pesados mediante sus estomas y la cutícula de la epidermis. Esta fase se realiza en la rizodermis de las raíces jóvenes, mediante la osmosis que está estrechamente relacionada con la temperatura y el pH del suelo.

B) Excreción

La vía de excreción de los contaminantes absorbidos es por medio de la fitovolatilización, esta se realiza a través de las hojas. Cuando la concentración presente es elevada, solo una cantidad menor al 5% se excreta sin alteración química alguna.

C) Desintoxicación de contaminantes.

Las plantas que han almacenado los contaminantes en su estructura se desintoxican por medio de la mineralización hasta el dióxido de carbono si son contaminantes orgánicos. Si la concentración del contaminante es elevada se procederá a la incineración controlada y las cenizas serán gestionadas por una empresa operadora de residuos peligrosos.

2.2.11. Mecanismos de tolerancia a metales pesados de las plantas.

Las plantas presentan criterios de tolerancia múltiple y estos se dividen en los siguientes mecanismos:

Mecanismos externos de tolerancia.

El microbiota presente en el suelo ha demostrado que estimulan la biodisponibilidad y facilitan la absorción de una variedad de los iones metálicos en las raíces, entre los iones tenemos el Mn^{+2} y Cd^{+2} .

Las proteínas que se trasladan a nivel celular desempeñan un rol importante en la homeostasis general de los iones metálicos y en la tolerancia de las plantas.

Fitoquelatinas

Según Reichman (2002) las fitoquelatinas son grupos de cisteína no proteínica que enlazan al metal con péptidos producidos por las plantas. Se tiene conocimiento que las fitoquelatinas tienen un rol constitutivo en el índice de tolerancia que posee una especie hiperacumuladora.

Genes que codifican metales

Según González y Zapata (2008) las metalotioneínas son proteínas de bajo peso molecular (4-8 kDa), generadas transcripcionalmente y con capacidad de unir iones metálicos (tan solo el 30 % del total de la proteína está formado por residuos de cisteína,) para evitar así una intoxicación por metales. Los primeros estudios para identificarlos se realizaron en embriones maduros de trigo.

A) Histidina

La histidina (Hi) es un aminoácido libre que posee un rol importante en la tolerancia de metales en plantas hiperacumuladoras, porque pueden capturar al metal a través de enlaces de sus grupos carboxilo, amino e imadazol.

Según Sharma y Dietz (2006) la formación de complejos Hi-metal ha sido observada en la zona radicular de las plantas hiperacumuladoras, la Hi puede actuar como agente quelantes del metal, así se inicia el transporte desde la raíz al tallo por medio de la xilema, quedando almacenada en las vacuolas

B) Prolina

El aminoácido proteínico prolina funciona como un osmolito, recolector de radicales, supresor de electrones, estabilizador de

macromoléculas y un importante componente celular. La prolina es importante en la ligación de iones de metales.

Almacenamiento de metales en vacuola

Según Reichman (2002) las vacuolas de las plantas hiperacumuladoras es el sitio donde se almacena los iones de metales pesados como última instancia.

2.2.12. Fenología

La fenología se basa en estudiar las fases o actividades periódicas y repetitivas del ciclo de vida de las plantas y su variación en el tiempo en un espacio de un año (Mantovani, 2003). Además se encarga de analizar la relación con factores bióticos y abióticos.

Existe distintos estadios fenológicos como la germinación, la floración, la fructificación e incluso la senescencia, que están relacionados directamente a cambios climáticos, siendo la temperatura, fotoperíodo, radiación solar, humedad relativa y precipitación las responsables (junto con la maquinaria genética) de los cambios de estadios fenológicos en las plantas (Sparks, Menzel y Stenseth, 2009). Las principales variables son la temperatura, el fotoperíodo y precipitación; que influyen en la fenología debido a que es un factor para monitorear la respuesta de las plantas al cambio climático y los distintos contaminantes que se encuentran en el ambiente.

Según Gallo (1993) para evaluar los estadios fenológicos y las curvas de crecimiento, es necesario precisar los conceptos de madurez existentes:

- Madurez fisiológica: se refiere cuando el fruto se encuentra fisiológicamente en su máximo estado de crecimiento y desarrollo con todas sus partes.
- Madurez de cosecha o de recolección o comercial: cuando el fruto se cosecha del árbol y puede consumirse.
- Madurez de consumo o madurez organoléptica: cuando el fruto presenta una calidad óptima de características de aroma, sabor y textura.

Fase Fenológica

Es el período durante donde aparecen, se transforman o desaparecen los órganos de las plantas. Se conoce también como el tiempo de una manifestación biológica. En las plantas se puede observar estas fases; cabe precisar que existen ciertas fases que no son visibles. Las principales fases fenológicas son las siguientes:

- Emergencia o floración
- Floración
- Fructificación
- Maduración

Etapas Fenológicas

En la etapa se puede evidenciar periodos críticos, que es el tiempo breve durante el cual la planta evidencia la máxima sensibilidad a determinado evento meteorológico, debido a ello se evidencia disminuciones en el rendimiento de

cultivo. El inicio y la culminación de las etapas sirven para analizar la rapidez del desarrollo de las plantas (MINAGRI, 2011).

Observación fenológica

Se basa en contabilizar el número de plantas que ha alcanzado una determinada fase en una fecha exacta.

2.2.13. Humus de lombriz

Según Pérez (2010) es el fertilizante orgánico, que posee mayores beneficios para el suelo, es el producto que sale del tubo digestor de la lombriz, su color que varía entre negro, café oscuro y gris, dependiendo del desecho reciclado, no tiene olor y es granulado, con un agradable olor a tierra de chacra. Posee propiedades que evitan su deterioro una de ellas es su bioestabilidad. El humus de lombriz posee una abundante cantidad de carga enzimática y bacteriana lo que aumenta considerablemente su asimilación por las raíces de las plantas, posee un peso específico menor de 1 (pesa menos que el suelo v/v). Puede encontrarse una carga de microorganismos 10 veces más que en la tierra común (100 a 200 millones/ cucharada de té).

Características del humus de lombriz

La característica más importante del humus es su alta carga microbiana que sirve como regenerador del suelo, el pH con valores que oscilan entre 6.8 y 7.2, lo que permite su aplicación directa a las semillas. Según estudios recientes consideran al humus de lombriz como el mejor abono orgánico por sus propiedades correctivas y regeneradoras de las condiciones físicas, químicas y

biológicas del suelo. La calidad del humus de lombriz varía de acuerdo a la alimentación de las lombrices. (Pérez,2010).

Según Vargas (2017) el humus tiene propiedad como quelante de metales pesados, lo que reduce la pérdida de micronutrientes y la toxicidad de estos; permitiendo la disponibilidad de dichos nutrientes por la planta. A continuación, se indican cuáles las condiciones físicas del humus de lombriz.

*Tabla 3.
Condiciones Físicas mínimas del humus de lombriz*

Indicador	Valor
Materia orgánica (%)	40
Humedad (%)	30-40
Relación Carbono/Nitrógeno	<20
Tamaño de partículas	90% pasan malla de 25 mm

Fuente: (Saavedra, 2007)

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

2.3.1. Ápice

Extremo o punta superior de un órgano; como una hoja, pétalo, etc.

2.3.2. Apoplasto

Es un espacio extracelular periférico a la plasmalema de las células vegetales .

2.3.3. Calidad de suelos.

Es la capacidad específica del suelo de cumplir diferentes funciones dentro de un ecosistema.

2.3.4. Escala BBCH.

Sistema establecido para una codificar uniformemente la identificación de los estadios fenológicos para todas las especies de plantas.

2.3.5. Evapotranspiración.

Es la combinación de procesos separados, en donde el agua se disipa a través de la superficie del suelo por el proceso de evaporación y por otra porción mediante transpiración de la planta.

2.3.6. Fotoperiodo.

Parte del día en que un ser vivo está expuesto a la luz.

2.3.7. Fitopatología.

La fitopatología es el estudio de las enfermedades de las especies vegetales, en particular realizar la investigación de agentes infecciosos (hongos, virus, bacterias, nematodos) y condiciones ambientales adversas (luz, temperatura, pH, agua) que provocan anomalías.

2.3.8. GPS.

Sistema de posicionamiento Global, sistema de navegación y determinación de alcance que permite establecer la posición geográfica en cualquier parte del globo terráqueo.

2.3.9. Meristemo.

Se encuentran en zonas de crecimiento constante de las especies vegetales, que están conformado por células que se dividen para originar otros tejidos, que se conocen como tejido joven o embrionario.

2.3.10. Monocotiledónea.

Son especies que tienen un solo cotiledón en su embrión a diferencia del par de cotiledones común en la mayoría de especies vegetales.

2.3.11. Morfología Vegetal.

Se basa en el estudio a nivel anatómico estructural a las especies vegetales, teniendo como base su estructura externa e interna: forma, partes (raíz, tallo, hojas, flores y frutos), constitución de sus células y tejidos, alteraciones o transformaciones que experimentan a través de un periodo de tiempo y ciclos vitales de la especie.

2.3.12. Muestra simple.

Son muestras recolectadas en un tiempo determinado y en un lugar particular .

2.3.13. Punto de muestreo.

Área o lugar determinado del suelo que se realizan la recolección de las muestras superficiales o de profundidad.

2.3.14. Semilla.

Estructura botánica cuya función es la propagación sexual o asexual de una especie vegetal.

2.3.15. Textura de suelo.

Es la propiedad física del suelo referida a la composición granulométrica, conformado por distintos porcentajes de arena, limo y arcilla, según el diámetro varia el tipo de suelo que está contemplado en la escala de la Sociedad Internacional de la Ciencia del Suelo.

2.3.16. Vacuola.

Son órganos celulares conformados por una membrana plasmática que en su interior que aísla el orgánulo del citoplasma. En el interior de la vacuola se encuentra distintos tipos de sustancias, desde enzimas a sustancias de desecho, pasando por agua y componentes sólidos.

CAPÍTULO III: Desarrollo del Trabajo de Suficiencia

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se ejecutó en las instalaciones de la Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur donde se acondiciono un lugar para la adecuada ejecución; para lo cual el suelo contaminado que se utilizó para dicho trabajo fue extraído del pasivo ambiental proveniente de la Ex compañía minera de Cobre Cata Acaril que se ubica en el margen del rio Omas en el Centro Poblado de Santa Rosa de Cata en el distrito de Coayllo en la provincia de Cañete.

3.1.1. Localización geográfica del área de extracción

El distrito de Coayllo se encuentra ubicado en la provincia de Cañete en el departamento de Lima. Se encuentra en las siguientes coordenadas UTM 341513.32 m E y 8592593775 m N con una elevación de 279 m.s.n.m. A continuación, se muestra la ubicación política del distrito de Coayllo.



Figura 1. Ubicación a nivel provincial

Fuente: Elaboración propia

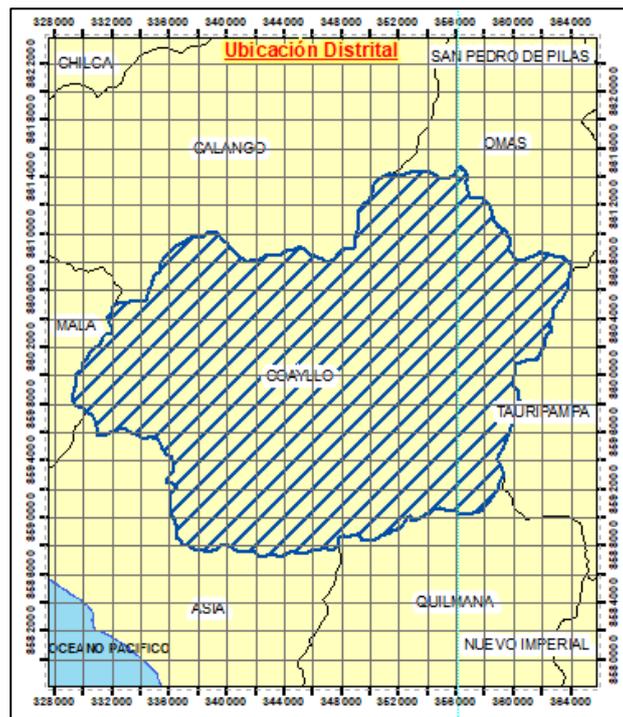


Figura 2. Ubicación del distrito de Coayllo

Fuente: Elaboración propia

3.1.2. Ubicación del área de extracción

Según Cuadros (2017), indica que la compañía minera de Cobre Cata Acaril se ubica en el margen del río Omas en el C.P de Santa Rosa de Cata en el distrito de Coayllo en la provincia de Cañete, esta unidad minera funcionó en la década de los 50 y 70, producto de sus actividades ha dejado un pasivo ambiental de 24 000 m³ de relave del beneficio de cobre, generando problemas de contaminación ambiental sino se trata de manera adecuada por su fácil movilización por el viento y generar aguas acidas por las precipitaciones.

En la zona donde se ubica el pasivo ambiental encontramos cultivo de hortalizas y frutales. En la actualidad estos cultivos se encuentran en peligro, porque la movilidad de ciertos contaminantes entre ellos el plomo pone en riesgo a los cultivos por que los suelos de la zona podrían contaminarse. En el Anexo N°02 se adjunta en el mapa de ubicación.



Figura 3. Pasivos ambientales de la Ex Compañía minera Cobre Cata Acaril

Fuente: Elaboración propia.

Para llegar a la zona de estudio se tiene que ir hasta el distrito de Mala, después abordar un carro con rumbo al Centro Poblado de Santa Rosa de Cata, después se llega caminando hasta el pasivo ambiental.

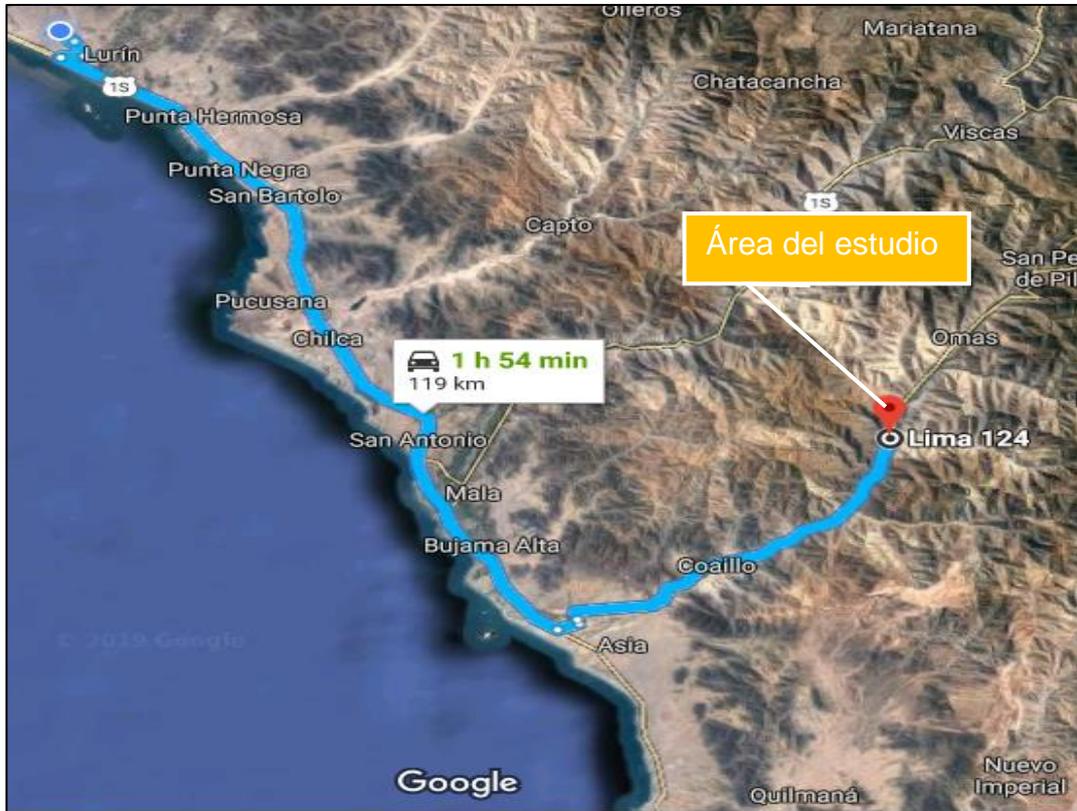


Figura 4. Vías de Acceso a la zona de extracción

Fuente: Google Maps.

3.2. MATERIALES, HERRAMIENTAS Y EQUIPOS

3.2.1. Materiales

- Frascos de Boca ancha
- Matraz enlermeyer
- Matraz aforado
- Probeta graduada
- Vaso precitado

- Pipeta
- Luna de reloj
- Bagueta
- Embudo
- Crisol

3.2.2. Equipos

- Termómetro ambiental
- Termómetro para suelo
- Mufla Industrial FD1535M THERMO SCIENTIFIC THERMOLYNE
- Balance Analítica SVA120
- Horno Estufa De Laboratorio Binder De Convección Natural- Modelo ED 23
- Medidor Multipárametro HACH CO HQ40d
- GPS Garmin portátil

3.3. PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS.

Previo a la realización de la investigación se obtuvieron muestra de suelo del pasivo ambiental para saber el grado de contaminación por metales pesados, se obtuvo como resultado que el suelo presentaba contaminación por Plomo (Pb). Primero se identificó el área de interés de 4.03 ha de acuerdo a la "Guía para Muestreo de Suelos" en el Marco del D.S N°002-2013-MINAM, y según información sobre el área que abarca el pasivo minero de la minera Cobre Cata Acaril.



Figura 5. Área de Potencial Interés

Fuente: Elaboración propia (Google Earth Pro)

Posteriormente se realizó un muestreo de Identificación que tuvo como objetivo determinar el nivel de contaminación del suelo, a través de la obtención de muestras representativas con el fin de establecer si valores de plomo en el suelo supera o no los Estándares de Calidad Ambiental y/o los valores de fondo de acuerdo a lo establecido en el D.S. N° 014-2017-MINAM.

Dentro del área de interés se estableció una estación de muestreo (Ilustración N°06) se consideró que la distribución de los puntos de muestreo de identificación fuera en muestreo aleatorio considerando la contaminación y las condiciones del área.

El número de los puntos que se establecieron según el área de la estación expresada en hectáreas fueron 4 puntos de muestreo, las muestras se tomaron a una profundidad de 20 cm, siguiendo lo indicado en las guías de muestreo. (Ver Anexo N°1 y N°2)

Posteriormente se llevó a analizar y los resultados de concentración del Plomo presente en el suelo es de 120.65 mg/kg. (Ver Anexo N°3). En la investigación se realizaron las siguientes actividades:

3.3.1. Diseño experimental

En la investigación se aplicó un diseño experimental de “bloques al azar” con 5 tratamientos y 3 repeticiones donde la planta es la unidad de tratamiento biológico experimental. Se realizó la distribución de las macetas que contendrán los tratamientos biológicos y el diseño del croquis experimental.

Tabla 4.
Tipo de tratamientos

	Tratamientos	Descripciones	Concentración de Pb ppm
(T1)	Tratamientos1	250g Suelo sin contaminar	-
(T2)	Tratamientos2	250g Suelo contaminado	120.65
(T3)	Tratamientos3	250g Suelo contaminado (1% de humus de lombriz)	119.44
(T4)	Tratamientos4	250g Suelo contaminado (2.5% de humus de lombriz)	117.62
(T5)	Tratamientos5	250g Suelo contaminado (5% de humus de lombriz)	114.608

Fuente: Elaboración propia

3.3.2. Aleatorización de las muestras

La aleatorización se llevó a cabo a través un sorteo para definir la nomenclatura TmRn para cada tratamiento y para las 3 repeticiones, donde la letra “m” indica el número de tratamiento y la letra “n” indica el número de repetición. Para la ubicación de las macetas se realizó el sorteo de los 15 papeles con las

repeticiones asignadas para cada tratamiento y a cada número de maceta consecutivo para preparar un croquis.

Tabla 5.
Resultado del diseño de bloques al azar

Croquis del diseño experimental		
Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3
1-T3R3	6-T1R1	11-T4R3
2-T1R3	7-T4R2	12-T4R1
3-T5R1	8-T5R2	13-T3R1
4-T2R1	9-T2R3	14-T1R2
5-T5R3	10-T2R2	15-T3R2



Fuente: Elaboración propia

Se asignó una nomenclatura a cada maceta del tratamiento, se colocó etiquetas resistentes a las inclemencias del clima en base a los bloques de diseño al azar. Se ubicaron las macetas en el sitio experimental en dirección al norte que se señala en el croquis de la tabla N°05, estas se colocaron en 3 columnas de 5 macetas cada una, con un espacio entre macetas de 30 cm en cada columna y con un espacio de 20 entre cada repetición.

3.3.2. Procedimiento Experimental

Muestreo

La muestra de suelo que se necesitaban para la ejecución de la investigación se obtuvo a través de un muestreo de detalle según la Guía de Muestro de suelo, elaborada por el Ministerio del Ambiente. Los puntos que se muestrearon fueron 3, donde se obtuvieron 2.5 kilogramos por cada punto, fueron muestras simples,

posteriormente se obtuvo una muestra compuesta A continuación se indican las coordenadas UTM sé dónde se obtuvieron cada muestra de suelo:

*Tabla 6.
Puntos de muestreo*

Coordenadas UTM: Zona 18L		
Punto de muestreo	Norte	Este
PM-01	353907.00	8605970.00
PM-02	353939.95	8605932.85
PM-03	353929.23	8605915.48
PM-04	353883.59	8605945.58

Fuente: Google Earth



Figura 6. Muestreo de suelo

Fuente: Elaboración propia

Para el tratamiento T1, el punto de muestreo fue en una zona de cultivos de hortalizas del distrito de Lurín, las coordenadas UTM se muestran a continuación:

Tabla 7.
Punto de muestro para el Tratamiento N°1

Coordenadas UTM: Zona 18L		
Punto de muestreo	Norte	Este
PM-4	8644405.379 m	295696.72 m

Fuente: Google Earth

Análisis de las muestras

Las muestras recolectadas, se colocaron en bolsa de plástico de 1 Kg de capacidad y se procedió a roturarla, esta bolsa fue hermética para mantenerla inalterada, posteriormente se llevó al laboratorio de análisis de agua, suelo y medio ambiente de la Universidad Nacional Agraria de la Molina. Los análisis que se realizaron fue una caracterización del suelo (Capacidad de Intercambio Catiónico, Conductividad Eléctrica, pH, textura porcentaje de materia orgánica) (Tabla N°8) y la determinación de la concentración de plomo (Tabla N°9).

Tabla 8.
Parámetros fisicoquímicos del suelo y el método empleado

Parámetro	Método	Cantidad	Equipo
Textura	Método del Hidrómetro o de Bouyoucos	50g	Balanza analítica, probeta de Bouyocous
CIC	Método del Acetato de Amonio	5g	Potenciómetro, Balanza analítica, buretas de 25 ml, vaso precipitado.
% MO	Método de determinación de Materia Orgánica	5g	Balanza analítica, crisol, mufla

Parámetro	Método	Cantidad	Equipo
CE	Método de Determinación de la Conductividad Eléctrica de las Soluciones	20g	Potenciómetro, Balanza analítica, probeta graduada de 50 ml, vaso precipitado.
pH	Método del Cloruro Potásico	20g	Potenciómetro, Balanza analítica, probeta graduada de 50 ml, vaso precipitado
DA	Método del Terrón revestido de parafina		Balanza analítica, probeta graduada de 50ml

Fuente: Elaboración propia

*Tabla 9.
Metodología del análisis de metales pesados en suelo*

Parámetro	Método	Equipo
Concentración de Pb	EPA 3050 EPA 3051	Balanza analítica y espectrofotómetro absorción atómica

Fuente: Elaboración propia.

Preparación del sitio de experimentación

Se trasladó las muestras de suelo para ser colocadas en las macetas, para evitar posibles riesgos se utilizaron guantes y respiradores. Se ubicó en un lugar adecuado con las condiciones necesarias para ejecutar la investigación.

Siembra de las semillas

Previo a la siembra se realizaron una prueba de germinación con la finalidad de poder asegurar la calidad de la semilla, en seguida se realizaron almácigos para

poder asegurar la uniformidad de las plantas, así mismo cabe mencionar que en la primera repetición de cada tratamiento se realizó una siembra directa y así poder evaluar el porcentaje de germinación. Según López (2005), se debe sembrar 4 o 5 semillas por golpe; siguiendo esta recomendación se procedió a sembrar 5 semillas de manera dispersa que abarque la mayor superficie del suelo de cada maceta, es seguidamente se colocó una capa de suelo contaminado de 0.5 cm para cubrir las semillas y posteriormente se humedeció el suelo. La *Brassica juncea* germinara a los 8 o 10 días después de la siembra, según estudios anteriores realizados a esta especie.



Figura 7. Siembra de semillas en los maceteros

Fuente: Elaboración propia

Trasplante de las plántulas

Los trasplantes se realizaron en la segunda (2°) repetición de cada tratamiento; mientras tanto en el otro almacigo se tenía plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas o conocidas como hojas verdaderas se

procedió a trasplantarlas en la tercera repetición de cada tratamiento. Cabe mencionar que en cada repetición se realizó el trasplante de 4 plántulas o plantas.

Riego de macetas.

El riego fue aplicado con baja intensidad durante la primera semana para no afectar la siembra de las semillas, posterior a la germinación de las semillas (8 días después de la siembra) se debe regar con un volumen de 10 ml a partir de sus primeras hojas, se realizó diariamente. En la experimentación se mantuvo al suelo en su capacidad de campo.

Metodología de monitoreo

En cada tratamiento se monitoreo los siguientes parámetros o características a lo largo de la investigación:

A) Evaluación del suelo:

El parámetro que se evaluó es el siguiente:

Temperatura del suelo

Durante el desarrollo del experimento, cada ocho días se realizó las lecturas de la temperatura del suelo de cada tratamiento posterior al riego en cada una de las repeticiones. Para obtener un promedio mensual de dichas temperaturas.

B) Evaluación del desarrollo Fenológico

El monitoreo se realizó diario en cada tratamiento desde la siembra de la semilla y el trasplante de las plántulas, si como de las plantas, estas se enumeraron para determinan un orden único en la toma

de datos, su estadio fenológico se determinó a partir de la escala BBCH, mediante la cual según las características morfológicas de la planta se ubica dentro de un estadio y un subestadio de desarrollo. (Ver Anexo N° 04)

C) Evaluación según la escala de estadios creciente por toxicidad de metales pesados

Se realizó la observación de los daños fitotóxicos inducidos basados en la escala propuesta por Hack. Ex T. Durand & Schinz que fue adaptado por Peláez, Casierra-Posada y Torres, la escala se muestra a continuación:

*Tabla 10.
Escala de Estadios crecientes por toxicidad de metales pesados Cadmio y Plomo (Hack. Ex T. Durand & Schinz)*

Estadio	Denotación	Descripción Marcador de daño	Reacción de la Planta ante el metal pesado	Situación de respuesta de la planta
1	SD Sin daño	Sin daño (SD): el tejido se encuentra aparentemente sano, sin deterioro en ambos limbos foliares, las raíces están turgentes, abundantes y de color blanco o cremoso	T Tolerante	Tolerante (T). La planta es resistente ante la presencia del metal pesado en sus tejidos, aunque lo esté bioacumulando, posiblemente en las raíces o en estructuras aéreas bajas.
2	Daño Leve	Daño leve (DL): Las hojas muestran ligeras quemaduras en las puntas, sin pérdida severa del color verde; las raíces poco abundantes, color pardo. La planta puede recuperarse.	(LR) Ligeramente Tolerante	Ligeramente tolerante (LT). La planta puede llegar a tener contacto con el metal pesado, lo puede absorber, transportarlo y concentrarlo en sus tejidos, manifestar toxicidad de leve a muy leve y rápidamente recuperarse ante el estrés del xenobiótico eliminándolo por exclusión.

3	DM Daño moderado	Daño moderado (DM): Las hojas pierden turgencia, puede presentarse una ligera clorosis. Entre un 25% y 50% de las raíces no son funcionales, su color es pardo rojizo muy intenso. La planta puede recuperarse.	(MR) Moderadamente tolerante	Moderadamente tolerante (MT). La planta tolera cierto grado de acumulación y daño visible, manifestando una apariencia de disturbio tóxico temporal. Los puntos de crecimiento vegetativo no se afectan, presentando recuperación durante el crecimiento ulterior a la intoxicación por el metal pesado. Sin embargo, la bioacumulación y la bioconcentración pueden llegar a ser altas, pero sin manifestación de daño total.
4	DS Daño severo	Daño severo (DS): Hay una clorosis generalizada en las hojas, crecimiento dilatado en las hojas nuevas. A su vez, las hojas jóvenes aparecen enrolladas. Las hojas también pueden dar un aspecto de estar quebradizas o arrugadas. En algunas hojas pueden aparecer estrías o un cribado sobre las nervaduras. Las puntas aparecen quemadas. Se puede presentar una necrosis prematura sobre las hojas bajas. Las raíces han perdido más del 50% de su funcionalidad, puede perderse entre 25% Y 50% de raíces por necrosis avanzada, con coloración rojiza o marrón intensa.	(S) Susceptible	Susceptible (S). La planta es muy susceptible ante la presencia del metal pesado, no es capaz de reproducir nuevo tejido sin síntomas de toxicidad, como clorosis, cribados. Los tejidos nuevos pierden turgencia. Por la bioacumulación o bioconcentración la planta transpira, y no hace fotosíntesis. Se detiene el crecimiento aéreo.
5	DE Daño extremo	Daño extremo (DE): Ocurre la muerte parcial o total de la planta. Presentando pérdida de turgencia, seguida de necrosis seca en tejidos de hoja y de tallo, en algunos casos con doblado de hojas y muerte de la hoja bandera. Pérdida total de las raíces hasta un 100%. La planta definitivamente muere al perder su capacidad fotosintética y su sistema de transporte de nutrientes.	(MS) Muy susceptible	Muy susceptible (MS). La planta es muy susceptible ante la presencia del metal pesado, mostrando sensibilidad temprana ante el tóxico. Ocurre muerte temprana ante el metal pesado.

Fuente: (Peláez, Casierra-Posada, & Torres, 2014)

3.3.3. Análisis estadístico e interpretación de los datos

Se utilizó el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 25, para realizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Actualmente se conoce el mecanismo de acción de los contaminantes xenobióticos como el plomo. En esta investigación se realizó 5 tratamientos, cada tratamiento tenía 3 repeticiones, a lo largo de la investigación se observaron las características fisiopáticas que presentó la unidad biológica experimental (*Brassica juncea*) y se comparó con la escala de estadios crecientes por toxicidad de metales pesados Cadmio y plomo, cabe mencionar que esta escala no se aplicó a la primera repetición de cada tratamiento, en lugar de la escala se evaluó el porcentaje de germinación.

Evaluación de los efectos del plomo

A. Porcentaje de germinación

Se analizó el porcentaje de germinación de la *Brassica juncea* en cada tratamiento, a continuación, se muestra la siguiente gráfica de los resultados obtenidos.

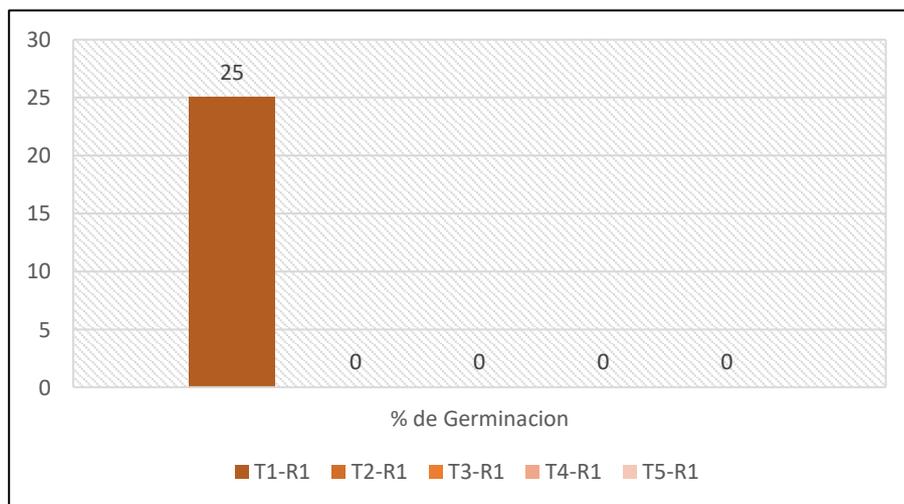


Figura 8. Porcentaje de germinación en cada tratamiento

Fuente: Elaboración propia

B. Evaluación de las características morfológicas de la *Brassica juncea*

En la Tabla 11, se muestran los estadios crecientes por toxicidad que presento cada repetición de todos los tratamientos evaluados, en la mayoría de los casos el estadio fue el 5 cuya denominación fue Daño Extremo. Así mismo en la Tabla 12, se especifica la escala de reacción que experimento la unidad biológica experimental (*Brassica juncea*), el T5-R3 fue menos susceptible a la fisipátias producida por el plomo.

Tabla 11.

Escala de Estadios crecientes por toxicidad de metales pesados Cadmio y Plomo de cada tratamiento

Tratamientos	R2	R3
	Estadio /Denotación	
Tratamientos 2 (T2)	5 / Daño Extremo (DE)	5 / Daño Extremo (DE)
Tratamientos 3 (T3)	5 / Daño Extremo (DE)	5 / Daño Extremo (DE)
Tratamientos 4 (T4)	5 / Daño Extremo (DE)	5 / Daño Extremo (DE)
Tratamientos 5 (T5)	5 / Daño Extremo (DE)	4/ Daño Severo (DS)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 12.

Escala de reacción de la planta ante el metal pesado

Tratamientos	R2	R3
	Estadio /Denotación	
Tratamientos 2 (T2)	Muy susceptible	Muy susceptible

Tratamientos	R2	R3
	Estadio /Denotación	
	(MS)	(MS)
	Muy	Muy
Tratamientos 3 (T3)	susceptible	susceptible
	(MS)	(MS)
	Muy	Muy
Tratamientos 4 (T4)	susceptible	susceptible
	(MS)	(MS)
	Muy	Susceptible (S)
Tratamientos 5 (T5)	susceptible	
	(MS)	

Fuente: Elaboración propia

Con respecto al grado de respuesta de los tejidos vegetales de las plantas expuestas a concentraciones de plomo, se identificaron daños a nivel histológicos, relacionados al estrés que fue inducido, cabe mencionar que 3 tratamientos tenían distintas concentraciones de humus de lombriz para conocer el efecto que tiene este abono natural en mitigar los efectos del plomo en las plantas. En la Tabla N° 13 y la Tabla N° 14, se presenta el resumen de las fisiopáticas que presentaron cada tratamiento.

En la tabla resumen se indica en que estadio se encuentra la *Brassica juncea* al ser trasplantada en la maceta de cada tratamiento. Ver Anexo N° 4.

Tabla 13.

Resumen de las fisiopáticas presentadas en la segunda repetición de cada tratamiento

Tiempo	T1-R2	T2-R2	T3-R2	T4-R2	T5-R2
Descripción					
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.
Día N°05	Ninguna plántula evidencio algún efecto.	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas no mostraron efectos y 1 plántula evidencio clorosis en sus hojas y tallo.	De las 4 plántulas trasplantadas; 3 plántulas no mostraron efectos y 1 plántula evidencio clorosis en sus hojas y tallo.	Las 4 plántulas evidenciaron perdida de turgencia en sus tallos y clorosis en sus hojas.	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas evidenciaron perdida de turgencia en sus tallos y clorosis en sus hojas mientras que 1 plántula presento perdida de turgencia y necrosis en la parte baja del tallo.
Día N°07	De las 4 plántulas trasplantadas, 2 plántulas presentaron un cambio de coloración en su tallo a morado, se debe a la carencia de fosforo, mientras que 1 plántulas presentaban una coloración de morado claro y 1 no presento modificación en sus características.	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas presentaron clorosis en sus hojas y tallo; mientras que 1 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas presentaron clorosis en sus hojas y tallo; mientras que 1 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.	De las 4 plántulas trasplantadas, 1 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.	Las 4 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.

Día N°09	Las 4 plántulas presentaron un color morado.	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas
Día N°12	De las 4 plántulas trasplantadas, 1 plántulas presentaron clorosis en sus hojas y se empezaron a enrollar, tenían un aspecto quebradizo y arrugado.	--	--	--	--
Día N°15	De las 4 plántulas trasplantadas, 1 plántula presento necrosis seca en los tejidos de hoja y de tallo. Mientras que los otros continuaron su crecimiento.	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia

Tabla 14.

Resumen de las fisiopáticas presentadas en la tercera repetición de cada tratamiento

Tiempo	T1-R3	T2-R3	T3-R3	T4-R3	T5-R3
	Descripción				
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.

Día N°05	Las hojas de las plantas pierden turgencia y presentan clorosis.	Las plantas no evidenciaron algún efecto.	Las plantas no evidenciaron algún efecto.	Las 4 plantas evidenciaron clorosis.	Las plantas no presentaron efectos.
Día N°07	De las 4 plantas trasplantadas ,3 plantas presentaron clorosis en sus hojas y se empezaron a enrollar, tenían un aspecto quebradizo y arrugado; mientras 1 planta presento clorosis, pero no las otras características.	De las 4 plantas trasplantadas 3 plantas presentaron turgencia en sus tallos; mientras que 1 planta evidencio clorosis en sus hojas.	De las 4 plantas trasplantadas, 3 plantas presentaron turgencia en sus tallos y 1 planta evidencio clorosis en sus hojas.	Las 4 plantas iniciaron un proceso de necrosis en sus hojas y tallos.	Las 4 plantas evidenciaron clorosis en sus hojas y tallos.
Día N°09	De las 4 plantas trasplantadas,3 plantas presentaron necrosis 1 planta presento clorosis en sus hojas y el tallo presento un color morado, lo que significa carencia de fosforo.	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	De las 4 plantas trasplantadas, 3 plantas evidenciaron clorosis en sus hojas y su tallo se volvió de color morado; mientras que 1 planta presento necrosis en sus hojas y tallos.
Día N°12	De las 4 plantas trasplantadas ,3 plantas presentaron necrosis y 1 planta inicio el proceso de clorosis en sus hojas y se empezaron a enrollar, tenían un aspecto quebradizo y arrugado.	Se evidencio la muerte de las plantas	Se evidencio la muerte de las plantas	Se evidencio la muerte de las plantas	De las 4 plantas trasplantadas ,2 plantas se empezaron a enrollar sus hojas además presentaron un aspecto quebradizo y arrugado, de estas plantas 2 hojas de las 4 iniciaron un proceso de necrosis.

Día N°15	Se evidencio la muerte de las plantas	-	-	-	2 plantas continuaron creciendo en la maceta
----------	---------------------------------------	---	---	---	--

Fuente: Elaboración propia

A continuación, se especifica los resultados en cada tratamiento y su respectiva evidencia fotográfica:

TRATAMIENTO N°01

– Repetición N°01

Se sembró 5 semillas de la *Brassica juncea*, al cabo de 8 días solo germinó 1 semilla, se puede inferir que el porcentaje de germinación fue de 20%, esto se debe a que nos encontramos en época de verano y no es temporada de cultivar hortalizas.



Figura 9. Germinación en el T1R1

Fuente: Elaboración propia

– Repetición N°02

Tabla 15.
Resultados del T1R2

T1-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	
Día N°05	Ninguna plántula evidencio algún efecto	
Día N°07	De las 4 plántulas trasplantadas, 2 plántulas presentaron un cambio de coloración en su tallo a morado, se debe a la carencia de fosforo, mientras que 1 plántulas presentaban una coloración de morado claro y 1 no presento modificación en sus características.	

T1-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día N°09	Las 4 plántulas presentaron un color morado.	
Día N°12	De las 4 plántulas trasplantadas, 1 plántula presentaron clorosis en sus hojas y se empezaron a enrollar, tenían un aspecto quebradizo y arrugado.	
Día N°15	De las 4 plántulas trasplantadas, 1 plántula presento necrosis seca en los tejidos de hoja y de tallo. Mientras que los otros continuaron su crecimiento.	

Fuente: Elaboración propia

Las plántulas continuaron su periodo de desarrollo fenológico sin ningún inconveniente, esto se debe a que las condiciones del suelo favorecieron su crecimiento.

– Repetición N°03

Tabla 16.
Resultados del T1R3

T1-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	
Día N°05	Las hojas de las plantas pierden turgencia y presentan clorosis.	
Día N°07	De las 4 plantas trasplantadas ,3 plantas presentaron clorosis en sus hojas y se empezaron a enrollar, tenían un aspecto quebradizo y arrugado; mientras 1 planta presento clorosis, pero no las otras características.	
Día N°09	De las 4 plantas trasplantadas,3 plantas presentaron necrosis 1 planta presento clorosis en sus hojas y el tallo presento un color morado, lo que significa carencia de fosforo.	

T1-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
		
Día N°12	De las 4 plantas: 3 plantas se necrosaron y 1 planta inicio el proceso de clorosis y enrollamiento de sus hojas, presentando un aspecto quebradizo y arrugado.	
Día N°15	Se evidencio la muerte de las plantas	

Fuente: Elaboración propia

Las plantas no lograron adaptarse después del trasplante esto se debe a las altas temperaturas que se presentan en esta época del año, que perjudicaron su crecimiento normal.

TRATAMIENTO N°02

– Repetición N°01

Se sembró 5 semillas de la *Brassica juncea*, pero al cabo de 15 días no germino ninguna semilla, esto se debe a la concentración de Pb presente en el suelo.

– Repetición N°02

Tabla 17.
Resultados del T2R2

T2-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	
Día N°05	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas no mostraron efectos y 1 plántula evidencio clorosis en sus hojas y tallo.	
Día N°07	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas presentaron clorosis en sus hojas y tallo; mientras que 1 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.	
Día N°09	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas	

Fuente: Elaboración propia

Las plántulas presentaron fisipátias hasta el punto de la muerte, debido a la concentración del plomo en el suelo. Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS).

– **Repetición N°03**

Tabla 18.
Resultados del T2R3

T2-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica

Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	
Día N°05	Las plantas no evidenciaron algún efecto.	
Día N°07	De las 4 plantas trasplantadas 3 plantas presentaron turgencia en sus tallos; mientras que 1 planta evidencio clorosis en sus hojas.	
Día N°09	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	
Día N°12	Se evidencio la muerte de las plantas	

Fuente: Elaboración propia

Las plantas no lograron adaptarse después del trasplante a la maceta del tratamiento N°2, donde se tiene una alta concentración de Pb, debido a que este contaminante inhibe las funciones básicas como la nutrición que permite el desarrollo de la especie.

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS).

TRATAMIENTO N°03

– Repetición N°01

Se sembró 5 semillas de la *Brassica juncea*, pero al cabo de 15 días no germino ninguna semilla, esto se debe al Pb presente en el suelo a pesar de que en esta maceta se colocó 1 % de humus de lombriz.

- Repetición N°02

Tabla 19.
Resultados del T3R2

T3-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	
Día N°05	De las 4 plántulas trasplantadas; 3 plántulas no mostraron efectos y 1 plántula evidencio clorosis en sus hojas y tallo.	
Día N°07	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas presentaron clorosis en sus hojas y tallo; mientras que 1 plántula mostro necrosis en sus hojas y tallo.	
Día N°09	Se evidencio la muerte de las 4 plántulas	

Fuente: Elaboración propia

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS), muestra de ello es la muerte de las plántulas en un periodo corto de tiempo.

- Repetición N°03

Tabla 20.
Resultados del T3R3

T3-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica

Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	
Día N°05	Las plantas no evidenciaron algún efecto.	
Día N°07	De las 4 plantas trasplantadas, 3 plantas presentaron turgencia en sus tallos y 1 planta evidencio clorosis en sus hojas.	
Día N°09	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	
Día N°12	Se evidencio la muerte de las plantas	

Fuente: Elaboración propia

Las plantas no lograron adaptarse después del trasplante a la maceta del tratamiento N°3, a pesar del porcentaje de humus de lombriz que contiene la maceta.

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS).

TRATAMIENTO N°04

– Repetición N°01

Se sembró 5 semillas de la *Brassica juncea*, pero al cabo de 15 días no germino ninguna semilla, esto se debe al Pb presente en el suelo a pesar de que en esta maceta se colocó 2.5 % de humus de lombriz.

– Repetición N°02

Tabla 21.
Resultados del T4R2

T4-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	
Día N°05	Las 4 plantas iniciaron un proceso de necrosis en sus hojas y tallos.	
Día N°07	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	
Día N°09	Se evidencio la muerte de las plantas	

Fuente: Elaboración propia

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS) a la concentración del Pb.

- Repetición N°03

Tabla 22.
Resultados del T4R3

T4-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	
Día N°05	Las 4 plantas evidenciaron clorosis.	
Día N°07	Las 4 plantas iniciaron un proceso de necrosis en sus hojas y tallos.	
Día N°09	Las 4 plantas se evidencio clorosis en sus hojas y el tallo.	
Día N°12	Se evidencio la muerte de las plantas	

Fuente: Elaboración propia

Las plantas no lograron adaptarse después del trasplante a la maceta del tratamiento N°4, a pesar del porcentaje de humus de lombriz que contiene la maceta.

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS).

TRATAMIENTO N°05

- Repetición N°01

Se sembró 5 semillas de la *Brassica juncea*, pero al cabo de 15 días no germinó ninguna semilla, esto se debe al Pb presente en el suelo a pesar de que en esta maceta se colocó 5 % de humus de lombriz.

- Repetición N°02

Tabla 23.
Resultados del T5R2

T5-R2		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plántulas de 2 semanas, se encuentran en el Estadio principal 1, sub estadio 10.	
Día N°05	De las 4 plántulas trasplantadas, 3 plántulas evidenciaron pérdida de turgencia en sus tallos y clorosis en sus hojas mientras que 1 plántula presentó pérdida de turgencia y necrosis en la parte baja del tallo.	
Día N°07	Las 4 plántulas mostraron necrosis en sus hojas y tallo.	
Día N°09	Se evidenció la muerte de las 4 plántulas	

Fuente: Elaboración propia

Según la escala de Estadio crecientes propuesta por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidenció un Daño Extremo (DE) y Muy susceptible (MS).

- Repetición N°03

Tabla 24.
Resultados del T5R3

T5-R3		
Tiempo	Descripción	Evidencia Fotográfica
Día del trasplante	Se trasplanto 4 plantas de 3 semanas, estas ya tenían su segundo par de hojas; en el Estadio principal 1, sub estadio 11.	
Día N°05	Las plantas no presentaron efectos.	
Día N°07	Las 4 plantas evidenciaron clorosis en sus hojas y tallos.	
Día N°09	De las 4 plantas trasplantadas, 3 plantas evidenciaron clorosis en sus hojas y su tallo se volvió de color morado; mientras que 1 planta presento necrosis en sus hojas y tallos.	
Día N°12	De las 4 plantas trasplantadas ,2 plantas se empezaron a enrollar sus hojas además presentaron un aspecto quebradizo y arrugado, de estas plantas 2 hojas de las 4 iniciaron un proceso de necrosis.	

Día N°15	2 plantas continuaron creciendo en la maceta
----------	--

Fuente: Elaboración propia

Según la escala de Estadio crecientes propuesto por Hack, Durand y Schinz la planta en este tratamiento evidencio un Daño Severo(DS) y Susceptible (S).

En la Figura N°10 y 11, se resume la cantidad de días que se evaluaron las fisiopáticas que la unidad biológica experimento en cada tratamiento, en la mayoría de los casos el daño fue extremo lo que provocó la muerte de la planta.

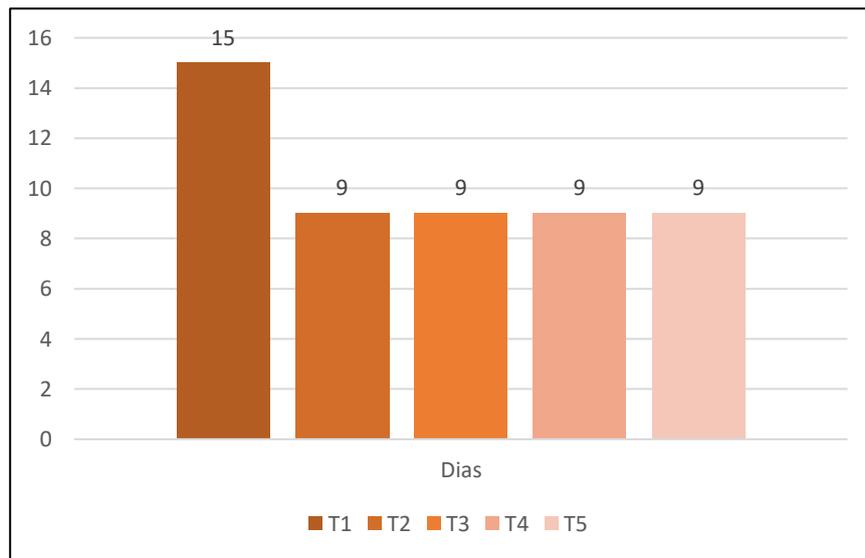


Figura 10. Días evaluados en la 2° repetición de cada tratamiento

Fuente: Elaboración propia

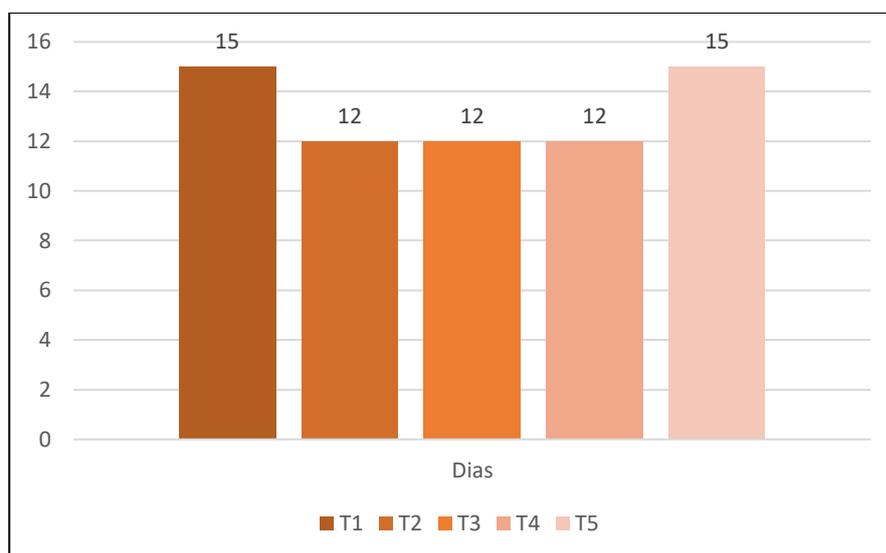


Figura 11. Días evaluados en la 3ª repetición de cada tratamiento

Fuente: Elaboración propia

Temperatura del suelo

Se realizó la medición de la temperatura del suelo en cada tratamiento, la temperatura promedio fue como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 25.
Temperatura promedio del suelo

Tratamientos	Temperatura promedio (C°)	
	8 días	16 días
Tratamientos 1 (T1)	20	21
Tratamientos 2 (T2)	21	20
Tratamientos 3 (T3)	21	21
Tratamientos 4 (T4)	20	21
Tratamientos 5 (T5)	21	21

Fuente: Elaboración propia.

Se realizó la caracterización del suelo empleado en los tratamientos, se muestran en el Anexo N°03.

C. Evaluación de la presencia de humus en cada tratamiento

De los tratamientos evaluados, 3 de ellos tenían un porcentaje de humus de lombriz. Los tratamientos con menos porcentaje de lombriz, la unidad biológica no se adaptó mientras que, en el T5R3, las 2 plantas se lograron adaptar al medio que fue sometido, lo que comprueba que 5% de humus de lombriz de 250 g de tierra favorecieron la adaptación, debido a sus propiedades quelantes de los metales pesados, lo que reduce la pérdida de micronutrientes y la toxicidad de estos.

Sin embargo, el análisis de Kruskal-Wallis para muestras independientes determinó que las distintas dosis de humus de lombriz no disminuyen los efectos de la concentración de plomo en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*, puesto que resultó estadísticamente no significativa respecto a la distribución de días que sobrevivió la especie, con un nivel de confianza de 95%. A continuación, se muestra los resultados de la evaluación en el software SPSS.

Tabla 26.
Resumen de contrastes de hipótesis

Hipótesis	Prueba	Sig	Decisión
nula			
La distribución de días es la misma entre categorías de Tratamientos.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	0.119	Conserve la hipótesis nula

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0.050

Tabla 27.
Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes

N total	10
----------------	----

Estadístico de prueba	7.347 ^{a,b}
Grado de libertad	4
Sig. Asintótica (prueba bilateral)	0.119

a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

b. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.

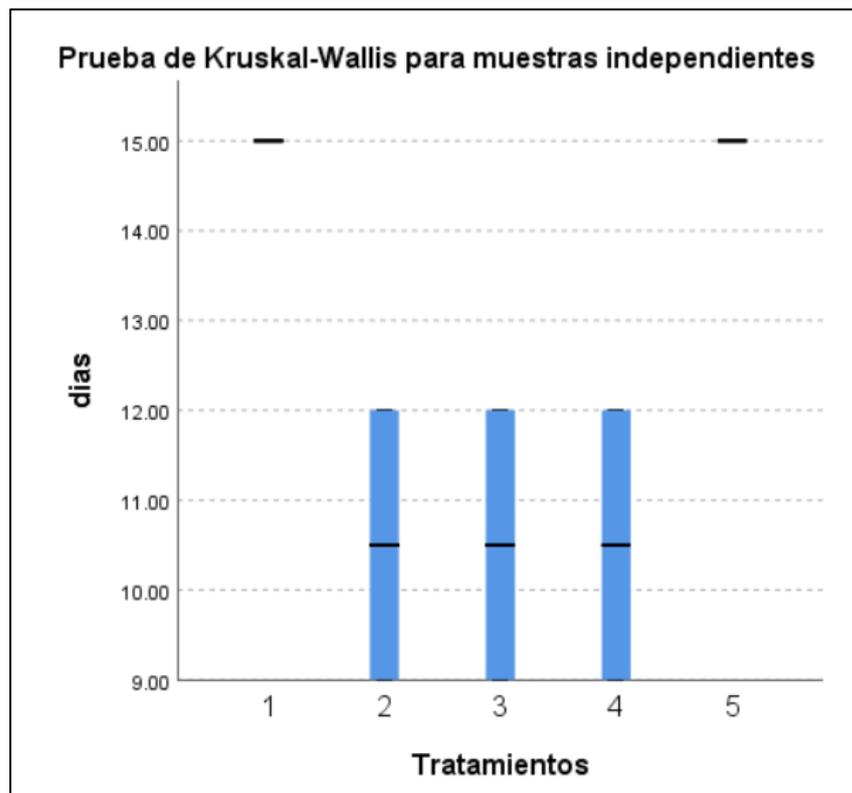


Figura 12. Prueba de Kruskal-Wallis

Fuente: Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

CONCLUSIONES

Después de haber evaluado los efectos de la concentración de Pb en el desarrollo fenológico de la *Brassica juncea* cultivada en suelos contaminados se llegaron a las siguientes conclusiones:

- La concentración del plomo presente en el suelo resulto ser muy toxico sobre la especie *Brassica juncea* en sus primero estadios fenológicos, a tal punto que se pudo observar alteraciones de características morfológicas y por consiguiente el estrés; debido a que este metal inhibió sus funciones básicas como la nutrición, el crecimiento de los tejidos fundamentales, el transporte de nutrientes esenciales como el Ca^{+2} cuya función es influir en la división celular; mientras que el Fe^{+} actúa como activador de procesos bioquímicos como la respiración, la fotosíntesis y por ultimo Zn^{+} cuya función es regulador de crecimiento vegetal.
- Los efectos de la concentración de Pb en las características morfológicas de la *Brassica juncea* fue clorosis generalizada y enrollamiento en sus hojas; así mismo ha generado disfunciones en sus mecanismos específicos que condujeron a la senescencia acelerada de las partes aéreas como el tallo y las hojas y como resultado la muerte, estas fisisipátias se deben a la carencia de nutrientes como Ca^{+2} , Fe^{+} y Zn^{+} que debido al plomo que impidió su transporte.
- La incorporación de humus de lombriz posterior a la prueba de Kruskal-Wallis resulto se no significativa en la disminución de los efectos de la

concentración de plomo en el desarrollo de los primeros estadios fenológicos de la *Brassica juncea*, a pesar que en el tratamiento 5 con un 5% de humus de lombriz en la maceta favoreció el desarrollo de las plantas, debido a sus propiedades quelantes de metales pesados en el suelo, reduciendo la pérdida de nutrientes y de la toxicidad del plomo; evidencia de ello es que los daños no fueron severos y no provocó la muerte de la especie en un periodo corto de tiempo; mientras que en los demás tratamientos donde el porcentaje de humus fue menor se evidenció la muerte de la especie.

RECOMENDACIONES

- Estudiar los efectos del plomo de *Brassica juncea* durante todo su desarrollo fenológico, teniendo en cuenta que los climas templados, tropicales secos y tropicales húmedos favorecen su crecimiento.
- Realizar evaluaciones de los efectos del plomo en el desarrollo fenológico empleando distintos acondicionadores en cada tratamiento para identificar cual favorece más en la adsorción de metales por la especie.
- En investigaciones posteriores incorporar una evaluación de las características biológicas del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adriano, D. (1986). *Trace Elements in the Terrestrial Environment*.doi:978-1-4757-1907-9
- Bayon, S. (2015). *Aplicación de la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados*. (Tesis de pregrado). Universidad Complutense, Madrid.
- Bernal Calderon, M., y Carpena, R. (Mayo de 2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*, 16(2), 1-3.
- Bhopal, R. (2008). *Concepts of Epidemiology Integrating the ideas, theories, principles and methods of epidemiology*. New York, EE.UU: Oxford University.
- Chavez, L. (2014). *Fitorremediación con especies nativas en suelos contaminados por plomo*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.
- Cotrina, R., Fonseca, E., Sánchez L. y Zavaleta K. (2018). *Influencia del *Amaranthus hybridus* en la remoción de metales pesados en suelos contaminados por la minería en Shiracmaca – Huamachuco, La Libertad*. (Tesis de pregrado). Universidad César Vallejo, Trujillo.

- Díez, J. (2009). *Fitocorrección de suelos contaminados con metales: Evaluación de plantas tolerantes y optimización mediante practicas agronomicas*.(Tesis doctoral).Universidad Santiago de Compostela, España.
- Ferreyroa, G. (2016). *Retención, biodisponibilidad y remediación de Pb en suelos: efectos de la interacción suelo-planta (Brassica napus) y bioacumulación* (Tesis doctoral). Universidad de Buenos,Argentina.
- Gallo, F. (1993). Índice de madurez para piña cayena lisa, guanábana, pitaya amarilla y maracuyá. *Agrodesarrollo*, 4(1/2), 171-200.
- Garcia, I., & Dorronsoro, C. (2005). Contaminación por metales pesados. *Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola*.
- Garcia , D. (2006). *Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de Zea mays L. expuestas a la toxicidad por plomo*.(Tesis doctoral).Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.
- Gonzalez, D., y Zapata, O. (2008). Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de Mexico*, (82),53-61.

Grandez, M. (2017). *“Remoción de cadmio y plomo en suelos a orillas del río mantaro, junin, mediante fitorremediación con girasol (*helianthus annuus*) y maíz (*zea mays*) usando enmiendas”*.(Tesis de pregrado). Universidad Cesar Vallejo, Lima .

Jara, E., Gómez, J., Montoya, H., Chanco, M., Mariano, M. y Cano, N. (2014). Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados. *Revista peruana de biología*, 21(2), 145-154. doi: <https://doi.org/10.15381/rpb.v21i2.9817>.

Jerez, J. (2013). *Remoción de metales pesados en lixiviados mediante fitorremediación* (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica, San José.

Kabata-Pendias, A. (1994). Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. *Institute of Soil Science and Cultivation of Plants*, 24-100. Recuperado de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-79316-5_1

Kathal, R., Malhotra, P., Kumar, L. y Lal, P. (2016). Phytoextraction of Pb and Ni from the Polluted Soil by *Brassica juncea* L. *Environ Anal Toxicol*, 6(5), 394. doi: 10.4172/2161-0525.1000394.

Lasat, M. (2000). *Use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soils*. USA. American Association for the Advancement of Science.

- López,A. (2005). *Prueba de Adaptación y Rendimiento de cuatro variedades de albahaca (ocimum basilicum) manejadas orgánicamente con cuatro niveles de bokashi.*(Tesis de pregrado). Escuela Politécnica del Ejercito, Ecuador.
- López-Martínez, S., Gallegos-Martínez, M., Flores, L., y Rojas, M. (2005). Mecanismos de Fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21(2),91-100.
- Mantovani, M. (2003). Fenología reproductiva de especies arbóreas em uma formação secundária da floresta Atlântica. *Árvore*,27(4),451-458.doi:S0100-67622003000400005
- Martin, C. (2000). Heavy metal trends in floodplain sediments and valley fill, River Lahn, Germany. *Cantena*, 39(1),53-68.
- MINAGRI. (2011). *Manual de observaciones fenológicas*. Lima.
- Monsalve, C. (2003). *Taxonomía y distribución de la familia Brassicaceae en la provincia de Huaylas- Ancash.*(Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Pagnanelli, F., Moscardini, E., Giuliano, V., y Toro, L. (2004). Sequential extraction of heavy metals in river sediments of an abandoned pyrite mining area:

pollution detection and affinity series. *Environmental Pollution*, 132(2),189-201.doi: 10.1016/j.envpol.2004.05.002.

Peláez, M., Casierra-Posada, F., y Torres, G. (2014). Tóxicidad de cadmio y plomo en pasto tanner (*Brachiaria arrecta*). *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(2), 3-13.

Perez , C. (2010). *Evaluación de nutrimentos y capacidad remediadora de la lombriz de tierra (Eisenia foetida) para extraer plomo y cadmio de precomposta equina y caprina en la region de Nazas ,Durango.* (Tesis de pregrado), Universidad Autonoma Agraria "Antonio Narro", México.

Pineda, R. (2004). *Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de glomusIntraradices en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (Helianthus Annuus L.) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina.* (Tesis doctoral) . Universidad de Colima,Colima.

Purga,S., Sosa, M.,Lebgue, T. ,Quintana C.y Campos,A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología aplicada*, 5(1,2), 149-155.

Rábago, I. (2011). *Capacidad de amortiguación de la contaminación por plomo y cadmio en suelos de la comunidad de Madrid.*(Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid. Madrid.

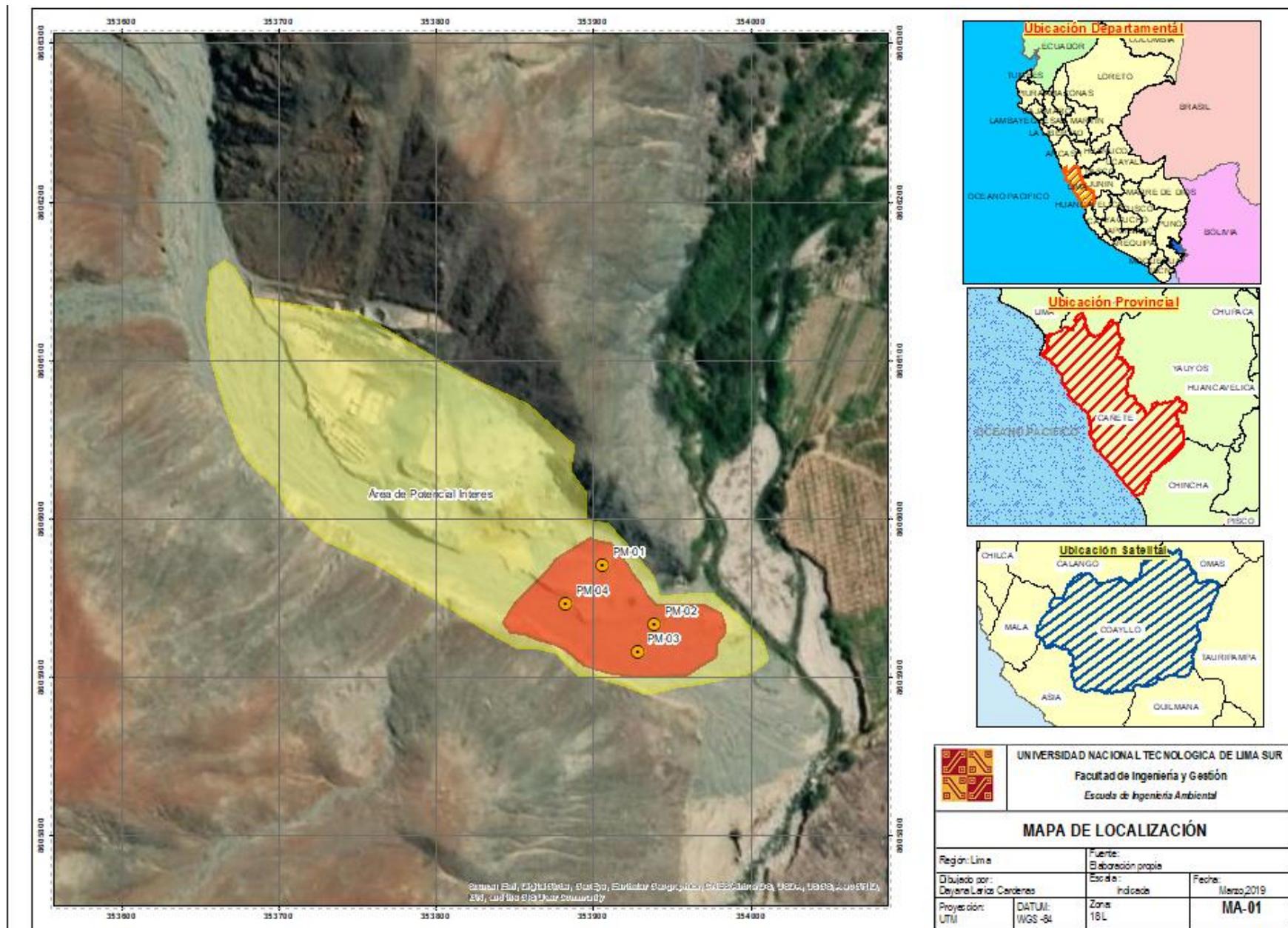
- Reichman, S. (2002). *The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese and zinc*. Australian Minerals and Energy Environment Foundation. 1-54.
- Roblero, L. (2013). *Fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados en la Comarca Lagunera*. (Tesis d). Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, México.
- Torres, A. (2018). *Factor de bioconcentración y traslocación de especies altoandinas para suelos contaminados con metales pesados provenientes de la Planta concentradora de Mesapata, en condiciones de invernaderos, 2015 - 2016*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Perú.
- Saavedra, M. A. (2007). *Biodegradación de Alperujo utilizando hongos del género Pleurotus y anelidos de la especie Eosenia foetida*. (Tesis de pregrado). Universidad de Granada, Granada.
- Sahuquillo, A., Rigol, A., & Rauret, G. (2003). Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *TrAC trends in Analytical Chemistry*, 22(3), 152-159. doi:10.1016/S0165-9936(03)00303-0.

- Salas, F. K. (2007). *Selección in vitro de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación.*(Tesis de maestría).Universidad Autonoma Metropolitana. México.
- Sánchez, M. (2017). *Evaluación del contenido de metales pesados (cd y pb) en diferentes edades y etapas fenológicas del cultivo de cacao en dos zonas del Alto Huallaga.* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. doi:2018-10-22T14:14:33Z
- Sauvé, S., McBride, M., y Hendershot, W. (1997). Speciation of Lead in Contaminated Soils. *Environmental Pollution*, 98(2), 149-155.doi:10.1016/S0269-7491(97)00139-5
- Serrano, S., Garrido, F., Campbell, C., & García-González, M. (2005). Competitive sorption of cadmium and lead in acid soils of Central Spain. *Geoderma*, 124(1-2), 91-104.
- Sharma, S., y Dietz, K. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *US National Library of Medicine National Institutes of Health.*,57(4), 711-726.
- Sierra, R. (2006). Torres, A. (2018). *Factor de bioconcentración y traslocación de especies altoandinas para suelos contaminados con metales pesados provenientes de la Planta concentradora de Mesapata, en condiciones de*

- invernaderos, 2015 - 2016*. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Sparks, T., Menzel, A., & Stenseth, N. (2009). European cooperation in plant phenology. *Climate Research*, 39, 175-177. doi:10.3354/cr00829
- Strawn, D., & Sparks, D. (2000). Effects of soil organic matter on the kinetics and mechanisms of Pb(II) sorption and desorption in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 64(1), 144-156.
- Verma, S., & Dubey, R. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters. *Plant Science*, 164(4), 645-655. doi:10.1016/S0168-9452(03)00022-0
- Violante, A., Pigna, M., & Ricciardella, M. (2003). Adsorption of heavy metals on mixed Fe-Al oxides in the absence or presence of organic ligands. *Water, Air and Soil Pollution*. 145(1-4), 289-306.
- Yang, Y., Jung, J., Song, W., Suh, H., & Lee, Y. (2000). Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. *Plant Physiol*, 124(3), 19-26.
- Zhang, J., Han, I., Zhang, L., & Cain, W. (2008). Hazardous chemicals in synthetic turf materials and their bioaccessibility in digestive fluids. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 18 (3), 600-607.

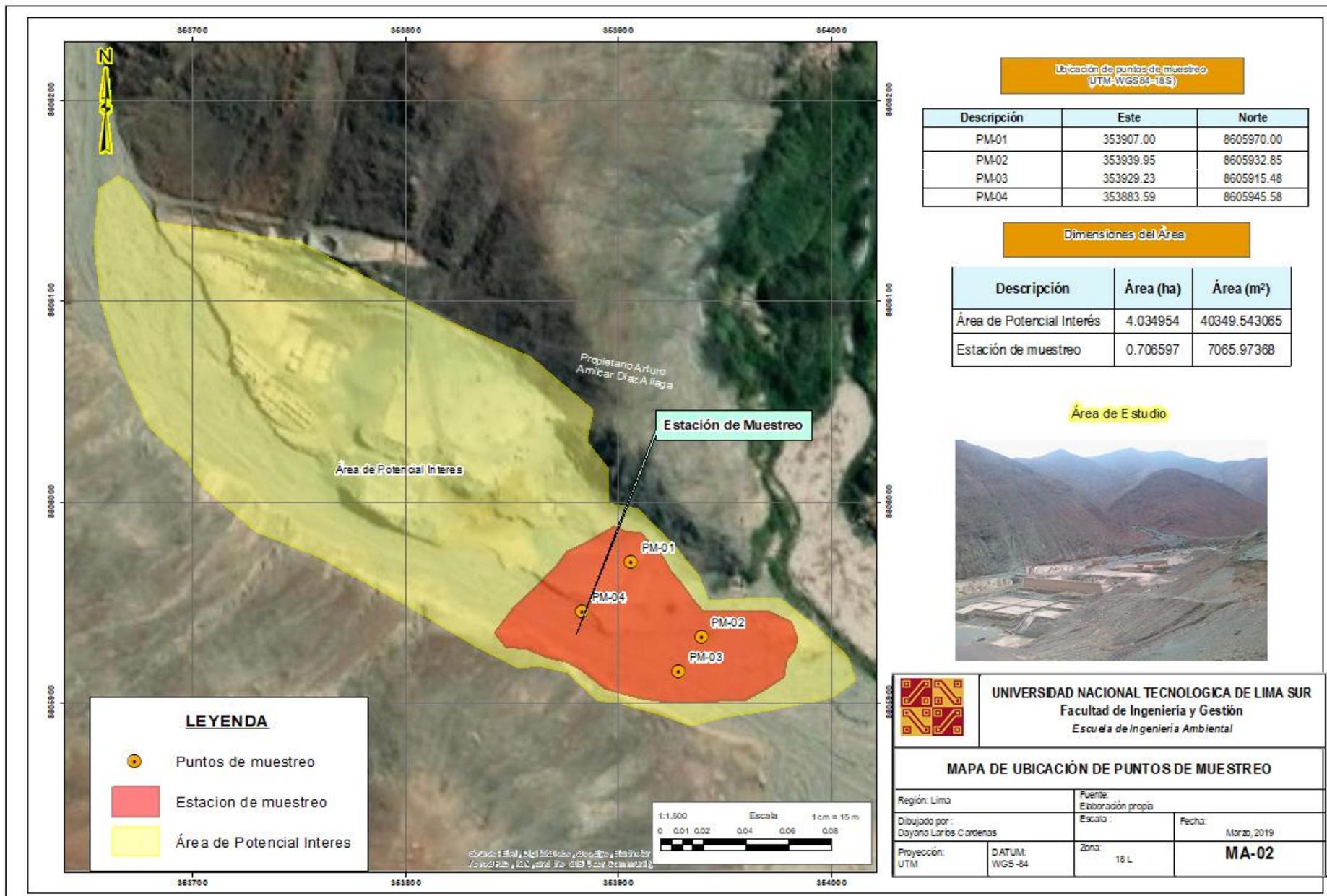
Zuluaga, J., Delgado , P., Padilla, S., & Quiñones, R. (2009). Estudio fenológico de tres especies de arvenses en la estación experimental del campus de Nueva Granada. *Biología*, 5(1), 50-63.

ANEXO N°01



 UNIVERSIDAD NACIONAL TECNOLÓGICA DE LIMA SUR Facultad de Ingeniería y Gestión Escuela de Ingeniería Ambiental			
MAPA DE LOCALIZACIÓN			
Región: Lima	Fuente: Elaboración propia	Fecha: Marzo 2019	
Diseñado por: Dayane Lariza Corderos	Escala: Índice	Zona: MA-01	
Proyección: UTM	DATUM: WGS-84	Zona: 18L	

ANEXO N°02



ANEXO N°03

CARACTERIZACION DEL SUELO DEL PM-05

Resultados de la caracterización del suelo empleado en el tratamiento N°1 (T1).

Muestra	E ds/m Relación 1:1	Análisis Mecánica				H Relación 1:1	.O %	ppm	ppm	aCO3 %	Cationes cambiabes (cmol(+)/Kg)					
		arena %	limo %	arcilla %	textura						IC Total	a ++	g++	a ++	++	I+3 + H +1
M-05	.34	2.1	2.86	5.04	rango arenoso	.23	.74	7.33	50	.01	0.95	.5	.4	.3	.75	.00

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional Agraria de La Molina

CARACTERIZACION DEL SUELO DEL PM-S

Resultados de la caracterización del suelo empleado en el tratamiento N°2, 3,4 y 5.

Muestra	E ds/m Relación 1:1	Análisis Mecánica				H Relación 1:1	.O %	ppm	ppm	aCO3 %	Cationes cambiabes (cmol(+)/Kg)						Concentración de Pb ppm
		arena %	limo %	arcilla %	textura						IC Total	a ++	g++	a ++	++	I+3 + H +1	
M-S	.79	0	0	0	rango arenoso	.29	.74	.2	4	.00	.60	.44	.62	.20	.35	.00	20.65

Fuente: Laboratorio de la Universidad Nacional Agraria de La Molina

ANEXO N°04

COMPENDIO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ESTADIOS FENOLÓGICOS DE ESPECIES MONO- Y DICOTILEDÓNEAS CULTIVADAS

Escala BBCH extendida

☐ Colza / Raps Weber und Bleiholder, 1990; Lancashire et al., 1991

Codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de la colza (raps)
(*Brassica napus* L. ssp. *napus*)

Código	Descripción
Estadio principal 0. Germinación	
00	Semilla seca
01	Comienzo de la imbibición de la semilla
03	Imbibición de la semilla, completa
05	Salida de la radícula (raíz embrional) de la semilla
07	Hipocótilo, con los cotiledones fuera de la semilla
08	Hipocótilo, con los cotiledones creciendo hacia la superficie del suelo
09	Emergencia: Los cotiledones traspasan la superficie del suelo
Estadio principal 1. Desarrollo de las hojas (tallo principal)¹⁾	
10	Cotiledones, completamente desplegados
11	1a hoja, desplegada
12	2 hojas, desplegadas
13	3 hojas, desplegadas
1.	Los estadios continúan hasta ...
19	9 o más hojas, desplegadas
Estadio principal 2. Formación de brotes laterales	
20	No hay brotes laterales
21	Comienzo del desarrollo de los brotes laterales; se detecta el 1er. brote lateral
22	Se detectan 2 brotes laterales
23	Se detectan 3 brotes laterales
2.	Los estadios continúan hasta ...
29	Fin del desarrollo de brotes laterales: se detectan 9 o más brotes laterales
Estadio principal 3. Crecimiento longitudinal del tallo principal²⁾	
30	Comienzo del crecimiento del tallo principal: sin entrenudos (internodios), estadio de roseta.
31	1 entrenudo perceptible
32	2 entrenudos perceptibles
33	3 entrenudos perceptibles
3.	Los estadios continúan hasta ...
39	9 o más entrenudos perceptibles

Colza / Raps Weber und Bleiholder, 1990; Lancashire et al., 1991

Codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de la colza (raps)

Código	Descripción
--------	-------------

Estadio principal 5. Aparición del órgano floral (tallo principal)

50	Botones florales presentes, aún rodeados por las hojas
51	Botones florales recién visibles desde arriba ("botón verde")
52	Botones florales libres; al mismo nivel de las hojas más jóvenes
53	Botones florales sobrepasan las hojas más jóvenes
55	Botones florales individuales (de la inflorescencia principal), visibles, pero aún cerrados
57	Botones florales individuales (de las inflorescencias secundarias), visibles, pero aún cerrados
59	Primeros pétalos, visibles; botones florales aún cerrados ("botón amarillo").

Estadio principal 6. Floración (tallo principal)

60	Primeras flores, abiertas
61	10 % de las flores de la inflorescencia principal, abiertas; la inflorescencia principal se alarga
62	20 % de las flores de la inflorescencia principal, abiertas
63	30 % de las flores de la inflorescencia principal, abiertas
64	40 % de las flores de la inflorescencia principal, abiertas
65	Plena floración: 50 % de las flores de la inflorescencia principal, abiertas; caen los pétalos de las flores más viejas
67	La floración decae: la mayoría de los pétalos se han caído
69	Fin de la floración

Estadio principal 7. Formación del fruto

71	10 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
72	20 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
73	30 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
74	40 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
75	50 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
76	60 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
77	70 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
78	80 % de las silicuas han alcanzado su tamaño final
79	Casi todas las silicuas han alcanzado su tamaño final

Colza / Raps Weber und Bleiholder, 1990; Lancashire et al., 1991

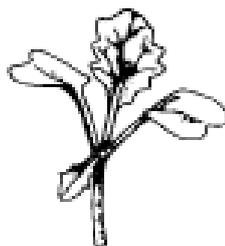
Codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de la colza (raps)

Código	Descripción
Estadio principal 8. Maduración de frutos y semillas	
80	Comienzo de la maduración: semillas verdes, relleno de la cavidad de la silicua
81	10 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
82	20 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
83	30 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
84	40 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
85	50 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
86	60 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
87	70 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
88	80 % de las silicuas, maduras; semillas negras y duras
89	Madurez completa: casi todas las silicuas, maduras; semillas, negras y duras.
Estadio principal 9. Senescencia	
97	Planta, muerta y seca
99	Partes cosechadas (estadio para señalar tratamientos de post-cosecha)

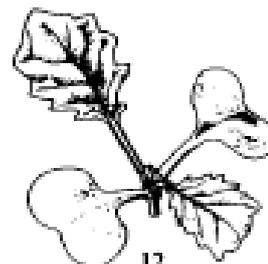
Colza (raps, *Brassica napus* L. ssp. *napus*)



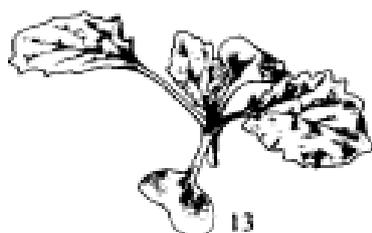
10



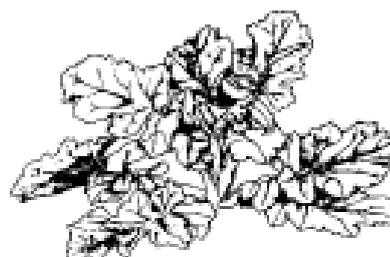
11



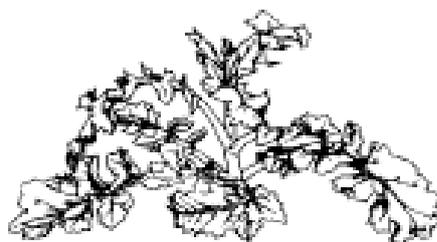
12



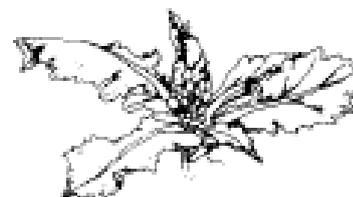
13



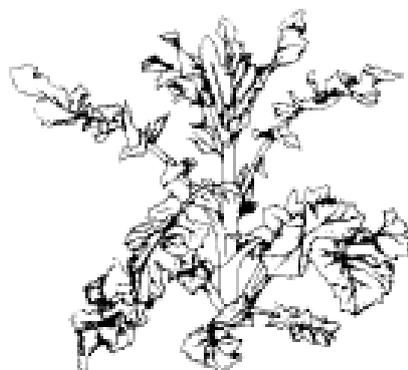
18



32



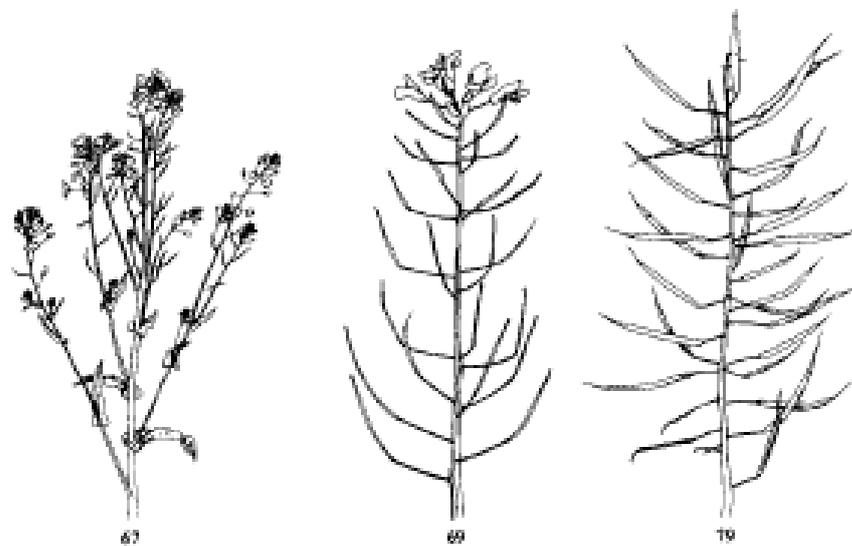
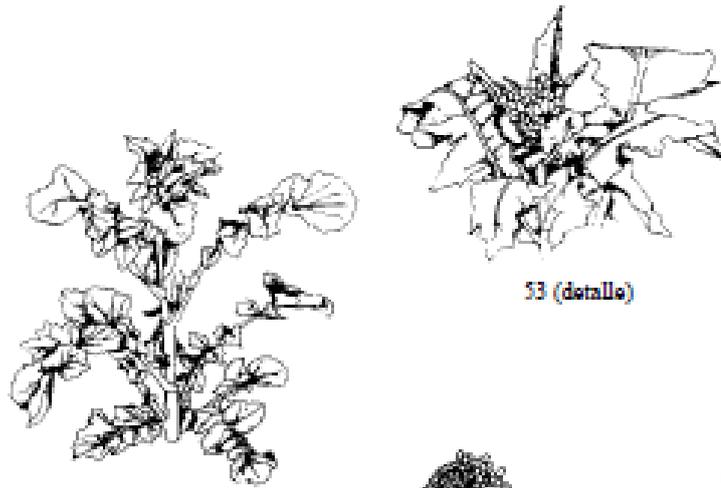
51 (detalle)



51



Colza (raps, *Brassica napus* L. ssp. *napus*)



ANEXO N°05

GALERÍA FOTOGRÁFICA



Pasivo Ambiental de la Ex Compañía Minera Cobre Cata Acaril



Toma de muestras de suelo



Muestra de suelos extraídas



Siembra de semillas, trasplante de plántulas.