

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA



INFLUENCIA DEL EDTA, FERTILIZANTE Y LOMBRICOMPOST EN EL MEJORAMIENTO DE LA FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO UTILIZANDO PLANTAS DE *Schinus molle* Y SU RELACIÓN CON EL CRECIMIENTO Y RESPUESTA FISIOLÓGICA, AREQUIPA, 2015

Tesis presentada por:

ALFARO CAMPOS, JIM MANUEL

DEL CARPIO CONDORI, GUILLERMO ARTURO

Para optar el Título de:

INGENIERO BIOTECNÓLOGO

Asesor: **BARDALES ALVAREZ, ROXANA
MARGARITA**

AREQUIPA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

A mis padres Jim y Maruja por el esfuerzo que realizaron para que sea profesional; a mi hermana Daniela por estar siempre alentándome a ser mejor, a mi esposa Dayana e hijos Abril y Mauro por ser mi estímulo y razón para ser profesional.

Jim Alfaro

A mis padres Felix y Luz por apoyarme a culminar mi carrera, y a mi hermana Fiorella, por aconsejarme para ser mejor cada día.

Guillermo Del Carpio

AGRADECIMIENTO

Ante todo a Dios, quien está siempre a mi lado, a mis padres y hermana por su amor, apoyo y sacrificio para lograr este título y a mi esposa e hijos por darme su amor y aliento.

Jim Alfaro

A Dios creador de la vida por permitirme avanzar siempre adelante y por hacer posible la culminación de esta tesis. A mis padres por estar conmigo siempre.

Guillermo Del Carpio

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	14
ABSTRACT.....	15
CAPÍTULO I.....	16
1.1 INTRODUCCIÓN	16
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	18
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
1.4 HIPÓTESIS.....	19
CAPÍTULO II	20
MARCO TEÓRICO	20
2.1 Metales pesados	20
2.2 El plomo, propiedades físicas y químicas.....	21
2.3 Comportamiento y dinámica del plomo en los suelos	23
2.4 Biodisponibilidad y movilización del plomo en el suelo: actividad microbiana y quelantes	24
2.5 Toxicidad de plomo en la planta.....	26
2.6 Mecanismos de resistencia al plomo: tolerancia y evitamiento.....	27
2.6.1 Quelación.....	28
2.6.2 Compartimentalización	29
2.6.3 Biotransformación	30
2.6.4 Mecanismos de Reparación Celular	30
2.7 Fitorremediación	30
2.8 Tecnologías de la fitorremediación.....	33
2.8.1 Fitoestabilización.....	33
2.8.2 Remediación por estimulación de la rizosfera mediante microbios (Fitoestimulación).....	33
2.8.3 Fitovolatilización.....	34
2.8.4 Transformación de compuestos inorgánicos y orgánicos.....	34

2.8.5	Rizofiltración	35
2.8.6	Fitoextracción	35
2.8.7	Plantas acumuladoras e hiperacumuladoras de metales pesados	36
2.9	El molle, clasificación y características	37
2.9.1	Morfología:	37
2.9.2	Distribución:	38
2.9.3	Hábitat:	38
2.9.4	Clasificación botánica (Gundidza, 1993):	38
2.9.5	Importancia y usos:	39
CAPÍTULO III.....		42
MATERIALES Y MÉTODOS.....		42
3.1	Materiales	42
3.1.1	Reactivos	42
3.1.2	Equipos	42
3.1.3	Instrumentos	42
3.1.4	Material vegetal	42
3.2	Método	43
3.2.1	Lugar de ejecución:	43
3.2.2	Recolección del material vegetal	43
3.2.3	Tratamiento de Semillas y crecimiento de plántulas	43
3.2.4	Tratamiento de sustrato	44
3.2.5	Evaluación de plantas	46
3.2.6	Determinación de plomo en plantas	50
3.2.7	Evaluación de sustrato	50
CAPÍTULO IV		51
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....		51
3.1	Respuesta morfológica	51
3.1.1	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en longitud de la raíz.	51

3.1.2	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de la raíz.	55
3.1.3	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de la raíz.	57
3.1.4	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en longitud de tallo.	59
3.1.5	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de tallo.	61
3.1.6	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de tallo.	62
3.1.7	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de las hojas. ..	65
3.1.8	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de las hojas.	66
3.1.9	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la relación vástago/raíz. ...	68
3.2	Respuesta fisiológica	70
3.2.1	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la síntesis de malondialdehído (MDA) en hojas de plantas de <i>Schinus molle</i>	70
3.2.2	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila “a”, “b”, y carotenos) en hojas de plantas de <i>Schinus molle</i>	72
3.2.3	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en el contenido de proteína total de hojas de plantas de <i>Schinus molle</i>	79
3.2.4	Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la actividad de la catalasa en hojas de plantas de <i>Schinus molle</i>	81
3.2.5	Índice de Bioconcentración de plomo en raíces de <i>Schinus molle</i>	83

CAPÍTULO IV	89
CONCLUSIONES	89
CAPÍTULO V	91
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1:	Lectura del sobrenadante de la extracción de hojas de <i>Schinus molle</i> para la determinación de concentración de malondialdehído a 532 y 600 nm.....	47
Figura N° 2:	Filtración de extracto de hojas de <i>Schinus molle</i> para la determinación de concentración de pigmentos fotosintéticos.....	48
Figura N° 3:	Reacción enzimática de descomposición del H ₂ O ₂ por (CAT) en baño maría a 37 °C.....	49
Figura N° 4:	Comparación de las medidas de crecimiento entre plantas de <i>Schinus molle</i> con diferentes tratamientos. De izquierda a derecha tratamiento con Fertilizante, EDTA-Lombricompost, EDTA, lombricompost, control y testigo.	51
Figura N° 5:	Longitud de la raíz (cm) de <i>Schinus molle</i> por el efecto de la influencia de plomo, EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	52
Figura N° 6:	Peso fresco de la raíz (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	55
Figura N° 7:	Peso seco de la raíz (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	57
Figura N° 8:	Longitud del tallo (cm) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	59
Figura N° 9:	Peso fresco del tallo (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	61
Figura N° 10:	Peso seco del tallo (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	63

Figura N° 11:	Peso fresco de las hojas (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	65
Figura N° 12:	Peso seco de las hojas (g) de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	67
Figura N° 13:	Comparación de las medidas de crecimiento entre plantas de <i>Schinus molle</i> con diferentes tratamientos. De izquierda a derecha tratamiento con Fertilizante, EDTA-Lombricompost, EDTA, lombricompost, control y testigo.	69
Figura N° 14:	Relación vástago/raíz en plantas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.	69
Figura N° 15:	Peroxidación lipídica (mm MDA/g P.F.) en hojas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	70
Figura N° 16:	Concentración de clorofila “a” (mg/g P.F.) en hojas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	72
Figura N° 17:	Concentración de clorofila “b” (mg/g P.F.) en hojas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	74
Figura N° 18:	Concentración de carotenos (mg/g P.F.) en hojas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	76
Figura N° 19:	Filtración de extracto de hojas de <i>Schinus molle</i> para la determinación de concentración de pigmentos fotosintéticos.....	78
Figura N° 20:	Curva de calibración obtenida por el método Bradford.	80
Figura N° 21:	Concentración de proteína total (mg/g P.F.) en hojas de <i>Schinus molle</i> por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.....	80

- Figura N° 22: Concentración de catalasa (umol H₂O₂/min/g proteína) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost..... 82
- Figura N° 23: Índice de bioconcentración (%) en raíces de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost. 84



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.	Propiedades físicas del plomo y de los principales metales.....	22
Tabla N° 3.	Composición de la Solución mineral stock según Hoagland completa.	44
Tabla N° 4.	Componentes del Fertilizante Nitromax.	45
Tabla N° 5.	Composición de nutrientes del lombricompost.....	46
Tabla N° 6.	Análisis de varianza de un factor de la longitud de raíz (cm) en plantas de <i>Schinus molle</i>	52
Tabla N° 7.	Comparaciones múltiples de la longitud de raíz en plantas de <i>Schinus molle</i>	52
Tabla N° 8.	Prueba específica de Tukey para la longitud de raíz (cm.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	53
Tabla N° 9.	Análisis de varianza de un factor del peso fresco de raíz (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	55
Tabla N° 10.	Comparaciones múltiples de peso de raíz en plantas de <i>Schinus molle</i>	55
Tabla N° 11.	Prueba específica de Tukey para el peso de raíz (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	56
Tabla N° 12.	Análisis de varianza de un factor del peso seco de raíz (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	57
Tabla N° 13.	Comparaciones múltiples del peso seco de raíz en plantas de <i>Schinus molle</i>	57
Tabla N° 14.	Prueba específica de Tukey para el peso seco de raíz (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	58
Tabla N° 15.	Análisis de varianza de un factor de la longitud de tallo (cm) en plantas de <i>Schinus molle</i>	59
Tabla N° 16.	Comparaciones múltiples de la longitud de tallo en plantas de <i>Schinus molle</i>	59
Tabla N° 17.	Prueba específica de Tukey para la longitud de tallo (cm) en plantas de <i>Schinus molle</i>	60

Tabla N° 18.	Análisis de varianza de un factor del peso fresco de tallo (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	61
Tabla N° 19.	Comparaciones múltiples del peso fresco de tallo en plantas de <i>Schinus molle</i>	61
Tabla N° 20.	Prueba específica de Tukey para el peso fresco de tallo (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	62
Tabla N° 21.	Análisis de varianza de un factor del peso seco de tallo (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	63
Tabla N° 22.	Comparaciones múltiples de peso seco de tallo en plantas de <i>Schinus molle</i>	63
Tabla N° 23.	Prueba específica de Tukey para peso seco de tallo (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	64
Tabla N° 24.	Análisis de varianza de un factor del peso fresco de hojas en plantas de <i>Schinus molle</i>	65
Tabla N° 25.	Comparaciones múltiples del peso fresco de hojas en plantas de <i>Schinus molle</i>	65
Tabla N° 26.	Prueba específica de Tukey para el peso fresco de hojas (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	66
Tabla N° 27.	Análisis de varianza de un factor en peso seco de hojas (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	67
Tabla N° 28.	Comparaciones múltiples en peso seco de hojas en plantas de <i>Schinus molle</i>	67
Tabla N° 29.	Prueba específica de Tukey en peso seco de hojas (g) en plantas de <i>Schinus molle</i>	68
Tabla N° 30.	Análisis de varianza de un factor para peroxidación lipídica en hojas (μmol pirogalo/min/g proteína) en plantas de <i>Schinus molle</i>	71
Tabla N° 31.	Comparaciones múltiples para peroxidación lipídica en hojas de <i>Schinus molle</i>	71
Tabla N° 32.	Prueba específica de Tukey para peroxidación lipídica en hojas (μmol pirogalo/min/g proteína) en plantas de <i>Schinus molle</i>	71
Tabla N° 33.	Análisis de Varianza de un factor para clorofila “a” en hojas (mg.g ⁻¹ PF) en plantas de <i>Schinus molle</i>	72

Tabla N° 34.	Comparaciones múltiples para clorofila “a” en hojas en plantas de <i>Schinus molle</i>	73
Tabla N° 35.	Prueba específica de Tukey para clorofila “a” (mg/g P.F.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	73
Tabla N° 36.	Análisis de varianza de un factor para clorofila “b” (mg/g P.F.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	74
Tabla N° 37.	Comparaciones múltiples para clorofila “b” en plantas de <i>Schinus molle</i>	74
Tabla N° 38.	Prueba específica de Tukey para clorofila “b” (mg/g P.F.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	75
Tabla N° 39.	Análisis de varianza de un factor para carotenos (mg/g P.F.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	76
Tabla N° 40.	Comparaciones múltiples para carotenos en plantas de <i>Schinus molle</i>	77
Tabla N° 41.	Prueba de Tukey para carotenos (mg/g P.F.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	77
Tabla N° 42.	Análisis de varianza de un factor para proteínas extraídas de hojas (mg/g P.S.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	80
Tabla N° 43.	Comparaciones múltiples en proteínas extraídas de hojas de <i>Schinus molle</i>	80
Tabla N° 44.	Prueba específica de Tukey para proteínas extraídas de hojas (mg/g P.S.) en plantas de <i>Schinus molle</i>	81
Tabla N° 45.	Análisis de varianza de un factor para catalasa ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/g}$ proteína) en plantas de <i>Schinus molle</i>	82
Tabla N° 46.	Comparaciones múltiples para catalasa en plantas de <i>Schinus molle</i>	82
Tabla N° 47.	Prueba específica de Tukey para catalasa ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/g}$ proteína) en plantas de <i>Schinus molle</i>	83
Tabla N° 48	Concentración de plomo en cada tejido y tratamiento de <i>Schinus molle</i>	83

RESUMEN

Se investigó el efecto del EDTA, fertilizante, lombricompost y EDTA-Lombricompost en la fitoextracción de plomo y relación con el crecimiento y respuesta fisiológica de plantas de molle (*Schinus molle*). Se trabajó con semillas, previamente humedecidas y sembradas en potes conteniendo arena y musgo (1:1, v/v). Simultáneamente, se prepararon potes conteniendo tierra de chacra: arena (1:2), estiércol y musgo. Luego se regó con la solución nutritiva Hoagland al 50% a capacidad de campo y humedecido durante 9 días con agua destilada cada 3 días. Pasado 12 días el suelo fue intoxicado con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (30 mg/kg). Luego de 10 días, se aplicó los tratamientos con EDTA, lombricompost, fertilizante, EDTA-Lombricompost, un testigo que contiene únicamente $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y un control. Estos sustratos fueron utilizados para trasplantar plantas de 30 días de edad, las que fueron cultivadas en un sombreadero, durante 21 semanas, manteniendo el suelo en su capacidad de campo regando interdiariamente con 50 mL de agua destilada. Se describe, que el tratamiento con lombricompost presentó mayor crecimiento en longitud radicular, peso fresco radicular, peso seco radicular e índice de tolerancia, y menor con fertilizante, respecto al control; pero la relación vástago/raíz fue mayor en el tratamiento con fertilizante y menor con los otros tratamientos, presentado un mayor desarrollo radicular, que se reflejó en una mayor capacidad de fitoextracción de plomo. En cuanto a la respuesta fisiológica se describe que el tratamiento con lombricompost presenta mayores valores de peroxidación lipídica, clorofila "a" sin alteraciones, clorofila "b" baja, carotenos sin alteraciones, concentración de proteína alta, catalasa baja. A diferencia del fertilizante que presenta alta concentración de peroxidación lipídica, clorofila "a", carotenos y catalasa, pero bajas concentraciones de clorofila "b" y proteína con respecto al control. En cuanto la fitoextracción se describe que el fertilizante es el único tratamiento que presenta un índice de bioconcentración alto (66.29%) con respecto al control (30.72%).

ABSTRACT

The effect of EDTA, fertilizer, vermicompost and EDTA-Vermicompost in phytoextraction of lead and relationship with growth and physiological response of plants molle (*Schinus molle*) was investigated. We worked with seeds, pre-moistened and planted in pots containing sand and moss (1: 1, v / v). Simultaneously, pots were prepared containing farm land: sand (1: 2), dung and moss. Then he watered with Hoagland nutrient solution 50% field capacity for 9 days moistened with distilled water every 3 days. Last 12 days soil was poisoned with Pb (NO₃)₂ (30 mg / kg). After 10 days treatment with EDTA, vermicompost, fertilizer, EDTA-Vermicompost, a control containing only Pb (NO₃)₂ and a control were applied. These substrates were used for repotting plants 30 days old, which were grown in a sombreadero for 21 weeks keeping the soil in field capacity watering inter daily with 50 mL of distilled water. It is described that treatment with vermicompost showed higher growth in root length, root fresh weight, root dry weight and tolerance index, and less fertilizer, compared to the control; but the relationship stem / root was higher in the treatment with fertilizer and less with the other treatments, presented greater root development, which was reflected in a greater capacity to lead phytoextraction. As described the physiological response to treatment with vermicompost it has higher lipid peroxidation, chlorophyll "a" unaltered, chlorophyll "b" lower, carotenes unaltered, high protein concentration, low catalase. Unlike fertilizer having high concentration of lipid peroxidation, chlorophyll "a", carotenes and catalase, but low concentrations of chlorophyll "b" and protein relative to the control. As described phytoextraction that the fertilizer is the only treatment that has a high bioaccumulation rate (66.29%) compared to the control (30.72%).

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

Las plantas son el blanco de una amplia gama de contaminantes que varían en la concentración, especiación y toxicidad. Tales contaminantes entran principalmente al sistema de la planta a través del suelo (Arshad et al., 2008) o a través de la atmósfera (Uzu et al., 2010). Entre los contaminantes comunes que afectan a las plantas, el plomo es uno de los más tóxicos y frecuentemente encontrado (Cecchi et al., 2008). El plomo sigue siendo utilizado ampliamente en muchos procesos industriales y se produce como un contaminante en el medio ambiente depositándose en suelo, agua, atmósfera y en los organismos vivos (Pourrutet al., 2011). Siendo uno de los más persistentes en la naturaleza (Punamiya et al., 2010) con numerosas fuentes como la fundición de plomo, combustión de gasolina, aguas residuales y fertilizantes, que son depositados mayormente en la tierra (Gupta et al., 2009). El plomo se acumula generalmente en la capa superficial del suelo, y su concentración disminuye con la profundidad (Arshad et al., 2008).

El plomo forma complejos estables con diferentes compuestos en el suelo y tiende a ser almacenado, variando su comportamiento por su forma, solubilidad, movilidad y biodisponibilidad y es controlado por muchos parámetros biogeoquímicos, como el pH del suelo, las condiciones redox, la capacidad de intercambio catiónico, mineralogía del suelo, condiciones biológicas y microbianas, cantidad y naturaleza de materia orgánica, ligandos inorgánicos presentes y cationes en competencia (Pourrutet al., 2011).

En 2009, la producción de plomo recuperable de las operaciones mineras era de 1690, 516, y 400 mil toneladas métricas por parte de China, Australia y los EE.UU., respectivamente (USGS 2009). A pesar de una larga historia de su uso beneficioso en la humanidad, no se ha conocido la función biológica del plomo en los organismos vivos (Maestri et al., 2010). Sin embargo, se informó que el plomo es la segunda sustancia más peligrosa, después del arsénico, basada en la frecuencia de aparición, toxicidad y el potencial en la exposición humana por la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR 2003).

La transferencia de plomo desde suelos contaminados a las plantas, ha sido ampliamente estudiada, especialmente en el contexto de la calidad de los alimentos, su uso en la fitorremediación, o en bioensayos (Arshad et al. 2008; Uzu et al. 2009). Este metal perjudica el crecimiento de plantas, elongación de la raíz, la germinación de semillas, desarrollo de plántulas, transpiración, la producción de clorofila, la organización laminar en el cloroplasto, y la división celular (Gupta et al., 2009, Maestri et al. 2010). Las plantas presentan mecanismos de desintoxicación internos para hacer frente a la toxicidad de metales que incluye la absorción de metales de forma selectiva, la excreción, la complejación por ligandos específicos y la compartimentación (Gupta et al 2009; Maestri et al 2010). Por el contrario, la fitoextracción requiere plantas que puedan secuestrar cantidades excesivas sin que su biomasa y funciones metabólicas básicas sufran daños (Arshad et al. 2008). Una vez que el plomo ha penetrado en el sistema de la raíz, puede acumularse allí o puede ser traslocado a las partes aéreas de la planta, pudiendo disminuir de esta manera la absorción de nutrientes por competencia de otros elementos con similar tamaño atómico que el plomo, ocasionando cambios en las actividades fisiológicas de la planta, como una disminución de la síntesis de proteínas totales (Mishra et al. 2006), que provocan un flujo de salida de potasio por las raíces, mas no de nitrógeno (Sharma y Dubey 2005). La inhibición de la fotosíntesis es un síntoma bien conocido de la toxicidad por plomo (Cenkci et al. 2010). Pero se cree que resulta de un efecto indirecto por la distorsión de los cloroplastos ocasionado por el plomo (Elibieta y Mirosława 2005). Sin embargo, todos estos diferentes efectos varían según las especies de plantas, duración de la exposición, la etapa de desarrollo de la planta, órgano estudiado y la concentración de plomo utilizada en la exposición (Pourrut et al., 2011) ya que incluso cuando pequeñas cantidades de plomo ingresen a las membranas de la célula de la raíz, ocasionará un aumento en el espesor de las paredes celulares (Krzyszowska et al. 2009, 2010), que están formadas por la pectina que al interactuar con el plomo forman un grupo carboxilo, considerándose esta la interacción más importante por la cual las células de las plantas resisten la toxicidad por este metal (Meyers et al 2008).

La producción inducida de ROS por el plomo es la principal causa de su toxicidad, estos radicales interrumpen el estado redox de las células, causando el estrés oxidativo y daño en el DNA a través de la oxidación, conduciendo a la disfunción

metabólica irreparable y muerte celular, pero esto puede llegar a ser combatido mediante la activación de varias enzimas antioxidantes (Pourrutet al., 2011).

La eficiencia de los mecanismos de detoxificación determina la tolerancia final o sensibilidad de las plantas sometida a estrés por este metal. Las plantas que tienen los mecanismos de detoxificación eficiente se caracterizan generalmente por ser hiperacumuladoras. Tales plantas son útiles en biorremediación de suelos para muchos tipos de metales. Las que llegan a resistir el estrés son tolerantes y a diferencia de las plantas que no hacen frente de manera eficiente con contaminantes son sensibles a la toxicidad de metales y se utilizan a menudo en los estudios de evaluación de riesgos (Pourrutet al., 2011).

Sobre la base de estas investigaciones se planteó la hipótesis de que en la especie de *Schinus molle* se llevan a cabo procesos de bioconcentración y bioasimilación de plomo, en cantidades que superan el 0.1% en peso seco, valores considerados prometedores en procesos de fitoextracción en los sitios contaminados.

El tratamiento con agentes quelantes, nutrientes minerales y enriquecimiento con microorganismos, mejora la capacidad de fitoextracción cercanas al 1% de peso seco aumentando su capacidad de fitoextracción de la especie *Schinus molle*, y reduciendo la contaminación por plomo a niveles aceptables por absorción de éste metal pesado.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del EDTA, fertilizante y lombricompost en el mejoramiento de la capacidad de fitoextracción de plomo utilizando plantas de *Schinus molle*, y su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la influencia del EDTA en la fitoextracción de plomo en plantas de *Schinus molle* y su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica,
2. Determinar el efecto de un fertilizante en la fitoextracción del plomo en plantas de *Schinus molle* y su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica,

3. Determinar la influencia del lombricompost en la fitoextracción del plomo en plantas de *Schinus molle* y su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica.
4. Determinar la interacción del EDTA y lombricompost en la fitoextracción del plomo en plantas de *Schinus molle* y su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica.

1.4 HIPÓTESIS

Dado que la planta de *Schinus molle* tiene la capacidad de absorber metales pesados, es posible que esta extraiga plomo bajo la influencia del EDTA, fertilizante y lombricompost, y medir su relación con el crecimiento y respuesta fisiológica.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Metales pesados

Los metales son un tipo de materias naturales originales distribuidas sobre la corteza terrestre a manera de yacimientos, las cuales han sido decisivas en la evolución y desarrollo del hombre como especie (Antonio D C et al. 2006). Debido a que este conjunto destacado de elementos ha servido a través de toda la existencia del hombre como base fundamental para diversos tipos de procesos industriales como: metalurgia, fabricación de plásticos, biocidas, etc. (Barceló, J et al. 1989).

Se denomina metales pesados un grupo de compuestos cuyas características principales es ser más densos que el agua (aproximadamente cinco veces) (García I et al. 2005), generalmente son producidos y acumulados como residuos, y constituyen una notable fuente de contaminación antropogénica (Barceló, J et al. 1989). Lo cual conlleva a un nivel de acumulación tóxico al cual se atribuye como la causa responsable del origen de diversos tipos de enfermedades en personas que han tenido un tipo de exposición constante a estas fuentes.

Los metales pesados por sus características no pueden ser degradados tanto por procesos químicos como biológicos. Una vez emitidos, suelen permanecer en el ambiente durante cientos de años. La concentración de éstos en seres vivos, depende de la ingesta de plantas o animales contaminados; lo cual puede llegar a provocar síntomas de intoxicación, ya que éstos presentan afinidad por los grupos tiólicos (-Sh-) presentes en la mayoría de enzimas de cualquier tipo de organismo vivo (García I et al. 2015).

Los metales pesados pueden clasificarse en dos grupos principales, basándose en la función biológica que presentan, según los cuales son clasificados como esenciales y no esenciales. En el grupo de los esenciales se puede encontrar: cobalto, cromo, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, vanadio, este tipo de compuestos tiene actividad biológica en concentraciones de trazas, así también se tiene el grupo de los no esenciales compuestos por: cromo, cadmio, mercurio, plomo, arsénico, antimonio,

talio a este grupo se denomina no esenciales no cumplen ningún tipo de función biológica conocida (MEJÍA S. et al. 2006).

El grupo de metales esenciales se encuentran en bajas concentraciones en el suelo y agua (trazas). Este tipo de elementos debe presentarse bajo un umbral de concentración, ya que, al sobrepasar el nivel máximo permitido para esta, se podrían tornar tóxicos para el organismo. Sin embargo, en cantidades fisiológicas forman parte de los sistemas enzimáticos como el cobalto, zinc, molibdeno o como el hierro que forma parte de la hemoglobina. Así como el exceso de éstos en el organismo puede causar diferentes tipos de enfermedades (García I et al. 2005).

El grupo de metales pesados en función biológica resulta altamente tóxico y presenta la propiedad de acumularse constantemente en los organismos vivos que quedan expuestos a estos elementos. En la actualidad los términos “metal pesado” y “metal tóxico” se usan como sinónimos, pero sólo algunos de ellos pertenecen a ambos grupos. La toxicidad de estos metales se debe principalmente a su capacidad de combinación con una gran variedad de moléculas orgánicas, pero la reactividad de cada metal es diferente y consecuentemente, lo es su acción tóxica.

Usualmente las moléculas suelen tener dentro de su estructura sulfhidrilos, los cuales se combinan con facilidad con los metales pesados produciendo inhibición de las actividades enzimáticas dentro del organismo (García I et al. 2005).

En organismos acuáticos, la toxicidad no sólo está influenciada por su concentración, sino también por el tiempo de exposición a estos y además por los diversos tipos de factores bióticos del ambiente. Existen diversos tipos de contaminantes en ambientes acuáticos tales como plomo, níquel, cadmio, cobre y mercurio. Se ha determinado también que en presencia de aguas duras (alta concentración de calcio) la toxicidad de este tipo de metales disminuye (Silva and Santos 2007).

2.2 El plomo, propiedades físicas y químicas

El plomo es un metal que presenta un peso atómico de 207.2, una estructura cristalina cúbica. Es obtenido a partir de minas de galena y sulfuro de plomo, calentando el mineral a bajas temperaturas (Herbert C. et al 2004).

Es además flexible, inelástico y se funde con facilidad. Su fusión se produce a 327,4 °C y hierve a 1 725 °C. Sus valencias químicas normales son 2 y 4. Es relativamente resistente al ataque de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, aunque se disuelve con lentitud en ácido nítrico y ante la presencia de bases nitrogenadas. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico. Tiene la capacidad de formar muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos (Martin 2008). Tal como la formación de hidróxido de plomo frente a su exposición con agua (Doris A. 2003).

Tabla N° 1. Propiedades físicas del plomo y de los principales metales

	Plomo
Densidad (g/cm ³)	11,34
Punto de fusión (°C)	327,4
Punto de ebullición (°C)	1725
Número atómico	82
Peso Atómico	207,19
Calor específico (J kj ⁻¹ K ⁻¹)	129,8
Conductividad térmica (Wm ⁻¹ K ⁻¹)	34,9
Resistividad a 20°C (Omh/cm)	20,6

Existen en la actualidad ocho isótopos de los cuales cuatro son radioactivos y los otros restantes son inestables. Estos últimos corresponden a las posiciones relativas de uranio, actinio y Torio 206, 207 y 206; mientras que el 208 no proviene de ninguna serie radiactiva (Salud Ambiental 2004)

El plomo en los ecosistemas puede ser detectado en su estado natural o complejados con sales. En las aguas superficiales pueden existir en forma de coloides y/o partículas, apareciendo como hidróxidos, óxidos, silicatos, sulfuros o adsorbidos en minerales del grupo de las arcillas, sílice y materia orgánica.

También se pueden encontrar en fase disuelta (debido a la baja solubilidad de estos elementos, las concentraciones presentadas son muy bajas en forma iónica o complejos organometálicos), la cual es dependiente del pH, del tipo de sorbentes en los que se encuentran adsorbidos, y por último del estado de oxidación de las fases minerales y el ambiente redox del sistema (Mejía, 2006).

2.3 Comportamiento y dinámica del plomo en los suelos

En la actualidad, el consumo anual de plomo a nivel mundial es de cerca de 9.600 millones de toneladas (Li et al. 2014), los cuales son orientados a la producción de una inmensa variedad de productos.

El plomo puede acumularse por causas naturales (meteorización de rocas y minerales, emisiones volcánicas y meteoritos), su concentración suele deberse principalmente a actividades humanas, por eso está ligada principalmente a ambientes humanos. Se tiene una fuente constante de emisiones de plomo procedentes de la combustión de la gasolina (Barceló, J et al. 1989).

Las mediciones sobre el contenido total de plomo nativo en suelos contaminados desarrollados a partir de piedras arenosas rojas y de sedimentos naturales dan como resultado valores de entre 40 y 70 partes por millón, en comparación a este tipo de resultado se obtiene un valor promedio de 16 partes por millón para la corteza terrestre en general (Lagerwerff, 1983).

La acumulación de plomo en el ambiente se debe al natural proceso de acumulación, y además, a aquellas actividades extractivas tales como: la minería o la formación de productos como pinturas, gasolina, explosivos e incluso fuentes de reciclaje de baterías (Hooker and Nathanail 2006), chimeneas de fábricas que utilizan plomo, procesos de producción y explotación minera de plomo, fertilizantes, pesticidas y componentes suministrados a las gasolinas (Eick et al. 1999).

Durante mucho tiempo se ha empleado el plomo como pantalla protectora para las máquinas de rayos X, en virtud de sus cada vez más conocidas aplicaciones en energía atómica.

Se han vuelto cada vez más importantes las aplicaciones del plomo como blindaje contra la radiación y los malos olores producidos por ésta. Su utilización como cubierta para cables, ya sea de teléfono, de televisión, de internet o de electricidad, sigue siendo una forma de empleo adecuada. La ductilidad única de plomo lo hace particularmente apropiado para esta aplicación, porque se puede estirar para formar un forro que continúa alrededor de los conductos internos (Martin 2008).

En la actualidad se utilizan una gran variedad de compuestos de plomo como los silicatos, carbonatos y sales de ácidos orgánicos, como estabilizadores contra el calor y la luz para los plásticos de cloruro de polivinilo. Se usa silicatos de plomo para la fabricación de las frituras (esmaltes) de vidrio y de cerámica.

El nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$ es utilizado como un detonador estándar para explosivos. Los arsenales de plomo se emplean en grandes cantidades en insecticidas para la protección de los cultivos y para ahuyentar insectos molestos como son las cucarachas, mosquitos y otros animales que poseen exoesqueleto.

El óxido de plomo se emplea para mejorar las propiedades magnéticas de los imanes de cerámica de ferrita de bario (Martin 2008)

Debido a su excelente resistencia a la corrosión, el plomo se encuentra en un amplio uso y en diferentes tipos de industrias tales como construcción, en particular en la industria química. Es resistente al ataque por parte de muchos ácidos, porque forma su propio revestimiento protector de óxido. Como consecuencia de esta su ventajosa característica, el plomo se utiliza mucho en la fabricación del manejo de ácido sulfúrico (Makkonen et al. 2012).

2.4 Biodisponibilidad y movilización del plomo en el suelo: actividad microbiana y quelantes

El plomo es un elemento que no tiene ninguna función fisiológica conocida (Patterson et al. 1991). Se cree que el uso generalizado de plomo en la antigua Roma tuvo mucha significancia con relación a la decadencia de la civilización. Los romanos usaban incluso el acetato de plomo, por su dulzura como edulcorante del vino, agudizando la intoxicación en las personas que lo consumían (Graeme and Pollack 1998).

Es por eso que se tienen registros de envenenamiento con este metal, especialmente en las clases acomodadas; y en épocas recientes, de casos de trabajadores expuestos al plomo, el cual tenían efectos negativos en su salud (NAP 1998).

Durante las últimas décadas se acumula una cantidad considerable de evidencia epidemiológica, la misma que demuestra que los niveles elevados del uso de plomo

en la población mundial ocasionan diversos efectos negativos en la salud (Lagerwerff, 1983).

El plomo entra en el hombre por inhalación e ingestión, siendo absorbido y transportado por la sangre. Este metal se acumula en el hígado, riñones y huesos hasta aproximadamente la quinta década de la vida; también, se presenta en los intestinos, páncreas y pulmones. Aproximadamente un 90% de la carga de plomo del cuerpo se encuentran en los huesos, especialmente en los dientes. (Salud Ambiental 2004).

La relación entre la exposición y los niveles del plomo sanguíneo constituye un proceso dinámico, en el cual, el plomo que se encuentra en la sangre y representa el producto de exposiciones recientes (Scragg A. 1999).

El plomo puede afectar a casi todos los órganos y sistemas del cuerpo, el más sensible es el sistema nervioso, tanto en niños como en adultos. La exposición prolongada en los adultos puede causar deterioro en el resultado de algunas pruebas que miden funciones del sistema nervioso. (Albert A 1990). También pueden producir debilidad en los dedos las muñecas y los tobillos. La exposición al plomo también produce un pequeño aumento de la presión sanguínea, especialmente en personas de mediana edad y de edad avanzada; cabe aclarar, que puede ser un agente causal de anemia. (Lagerwerff, 1983).

A nivel celular, el plomo se concentra en el núcleo, mitocondrias y microsomas. Es excretado principalmente en la orina y las heces, pero también la saliva, sudor y el pelo.

Bajo condiciones promedio, el plomo es tomado en una tasa aproximada de 300 μg en los alimentos sólidos, 200 μg en los líquidos y de 10 a 100 μg del aire. Aproximadamente un 10% del plomo ingerido es absorbido gastrointestinalmente y de 30 a 50% del plomo inhalado se encuentran en los alveolos de los pulmones. (Lagerwerff, 1983).

La diferencia entre los ambientes más y menos contaminados se muestra en las cantidades relativas de plomo absorbido como resultado de inhalación y de ingestión. En ambientes rurales un 20% de todo el plomo absorbido puede venir del aire,

mientras que en áreas urbanas puede representar el 50% o más, dependiendo parcialmente de la ocupación del individuo.

La naturaleza de las manifestaciones de toxicidad depende no sólo de la magnitud de exposición, sino también en las características de la persona expuesta, es así entonces que la exposición frente a plomo es más crítica para fetos en desarrollo y niños en crecimiento que para adultos plenamente conformados (Silbergeld 1991).

A partir de experimentos llevados a cabo con animales, se pudo deducir que la exposición crónica al plomo a bajos niveles, tal como ha ocurrido en la mayoría de las áreas urbanas, puede tener un impacto en la salud en un sentido general. (Lagerwerff, 1983).

El grado en el cual el plomo inhalado es absorbido en la sangre, depende en gran parte del tamaño de la partícula. En un estudio, se determinó que partículas mayores a $50\ \mu\text{m}$ no pudieron atravesar el tracto respiratorio más allá de los bronquios principales, éstas fueron retenidas en el área nasofaríngea y aparecieron en las heces. Partículas menores a $5\ \mu\text{m}$ descendieron por los bronquiolos respiratorios. Partículas menores a $0.6\ \mu\text{m}$ alcanzaron los alveolos y fueron depositadas, aquellas menores a $0.3\ \mu\text{m}$ permanecieron en el aire, pudiendo ser exhaladas. Como aproximadamente 75% del plomo particulado es originado por la combustión de automóviles siendo su tamaño menor a $1\ \mu\text{m}$, este podría alcanzar los alveolos con relativa facilidad (Lagerwerff, 1983).

2.5 Toxicidad de plomo en la planta

La inhibición del crecimiento de las raíces es reconocido por ser uno de los síntomas más destacados de la contaminación por cobre con desarrollo y elongación de la raíz lateral, encontrándose mucho más sensitiva que la raíz inicial (Fernandes and Henriques 1991).

El cobre es ampliamente reconocido por causar impactos substanciales sobre el contenido de carotenos y clorofila e inducirlos a una destrucción por oxidación (Bačkor and Váczi 2002). El incremento relativo del radio de clorofila sugiere que el cobre afecta de forma diferencial el fotosistema II, en el cual la clorofila tipo II está localizada.

El exceso de plomo causa una variedad de síntomas por toxicidad en las plantas como la reducción del crecimiento, clorosis y el crecimiento del sistema radicular. La inhibición del crecimiento radicular aparece como resultado de la inhibición del crecimiento de las células meristemáticas inducidas con plomo (Eun, Youn, and Lee 2000). El plomo además inhibe los otros sistemas, alterando la nutrición mineral y el balance de agua, modificando los niveles hormonales y afectando la estructura y permeabilidad de la membrana plasmática. (Sharma et al. 2005).

El plomo puede alterar el proceso de fotosíntesis mediante efectos sobre sus estomas o el mesófilo celular, en los cuales pueden ser afectados tanto reacciones bioquímicas como procesos fotoquímicos. (Kosobryukhov 2004).

Reduce además la actividad de la carboxilasa y los efectos metabólicos del ciclo de Calvin (Stiborova et al. 1987).

2.6 Mecanismos de resistencia al plomo: tolerancia y evitamiento

La hiperacumulación ha evolucionado en más de 400 especies de plantas repartidas en 45 familias botánicas, siendo la familia *Brassicaceae* una de las que cuenta con más géneros de este tipo. Se encuentran distribuidas por todo el mundo, predominando en Nueva Caledonia, Cuba y la región mediterránea, entre otros lugares. (Bačkor and Váczi 2002)

Unas basan su resistencia a los metales con la estrategia de una eficiente exclusión del metal, restringiendo su transporte a la parte aérea. Otras prefieren acumular el metal en la parte aérea en una forma no tóxica para la planta. La exclusión es más característica de especies sensibles y tolerantes a los metales, mientras que la acumulación es más común de especies que aparecen siempre en suelos contaminados o metalíferos (Baker 1987; Barceló and Poschenrieder 2003).

A una baja concentración el plomo puede moverse a través de las membranas laterales, principalmente por la vía del protoplasto y radialmente, mediante la corteza donde se acumula cerca al endodermo. La sede principal del endodermo para la translocación del plomo se ubica desde la raíz hasta otro tipo de órgano, esta es una de las muchas razones por las cuales la acumulación del plomo en raíces se puede dar (Verma and Dubey 2003).

Una forma de resistencia y protección de las raíces es la rápida colonización por medio de micorrizas, las cuales les sirven como un “órgano” de protección (Wisniewski and Dickinson 2003).

La planta puede protegerse formando complejos metálicos estables menos tóxicos con quelantes (como ácidos orgánicos, aminoácidos o fenoles del tipo flavonoides) y/o secuestrando los metales pesados en un metabolismo activo (citoplasma) hacia el interior de las vacuolas o en la pared celular, donde no pueden ocasionar efectos adversos. Parece ser que la tolerancia de estas plantas no viene determinada por la acción de un solo mecanismo interno, sino de varios, que actuarán conjuntamente.

La planta Grano Castor fue capaz de acumular grandes cantidades de plomo, especialmente en sus raíces, demostrando la capacidad de absorción y acumulación de plomo que ésta puede lograr (Stoltz and Greger 2002). Una alta capacidad de retención de plomo en raíces por translocación restringida fue reportada en especies como *Heliantus annus*, *Pinus radiata*, *Spinacia oleracea* y *Prasopsis spp.* (Jarvis and Leung 2002).

La absorción de plomo es regulada por el pH del medio, la capacidad de intercambio de cationes del suelo, y por exudación mediante parámetros físico-químicos (Lasat 2002).

Algunos tipos de plantas poseen mecanismos efectivos para la desintoxicación y acumulación de metales tóxicos. Para lograr el desarrollo de plantas con capacidad de acumulación de metales es necesario comprender la existencia de estrategias bioquímicas y moleculares que adoptan este tipo de plantas para resistir la toxicidad metálica. Esos mecanismos incluyen quelación, compartimentalización, biotransformación y mecanismos de reparación celular.

2.6.1 Quelación

La quelación se refiere a la capacidad de ciertos ligandos de reducir la concentración de iones a través de su alta afinidad con éstos, combinándose de forma específica con metales pesado, lo cual disminuye la fitotoxicidad de éstos. Se conocen dos tipos principales de péptidos quelantes para metales pesados en plantas, nos referimos a las metalotioneínas y fitoquelatinas.

Las metalotioneínas son proteínas de bajo peso molecular ricas en cisteína, las cuales son inducidas por iones de cobre y tienen una alta afinidad por este metal. Recientes investigaciones de expresión de metalotioneínas en *A. thaliana* demuestra que está fuertemente correlacionado con la resistencia al cobre, lo cual sugiere que estas estén involucradas en la resistencia al mismo metal.

Las fitoquelatinas, por otro lado, son moléculas de bajo peso molecular sintetizadas simétricamente por péptidos ricos en cisteína, las cuales son conocidos por enlazar cadmio y el cobre en plantas (Ramirez, Silva et al.1999)

Para la síntesis de fitoquelatinas es necesario en primer lugar que ocurra la síntesis de cisteína necesaria para la formación del glutatión (GSH) proceso en donde intervienen las enzimas gamma-glutamyl-cys-sintetasa y la glutatión-sintetasa. Una vez que el metal pesado entra en contacto con la fitoquelanina-sintetasa, ésta se activa y cataliza la conversión del glutatión a la molécula de fitoquelanina. Con la unión del cadmio a las fitoquelatinas el complejo es secuestrado y llevado a las vacuolas, donde forma un complejo molecular pesado con sulfuro (Cd-FQ-S) que ha sido considerado como la forma más estable para almacenar el metal.

Se propuso el uso comercial de fitoquelatinas como un marcador fisiológico de contaminación por metales pesados, ya que se encontró una correlación positiva entre la concentración de fitoquelanina y el metal en plantas. Fue determinado también que la concentración de fitoquelanina aumenta proporcionalmente con el tiempo de exposición al cadmio, incrementándose 4.7 veces en un periodo de 10 horas; sumado ello las fitoquelatinas pueden ser detectadas mucho antes de que se incremente la concentración de metales, por lo que pueden ser utilizadas como video marcadores de contaminación por metales pesados (Salt, Smith, and Raskin 1998).

2.6.2 Compartimentilización

La toxicidad de algunos metales pesados como cromo, selenio y arsénico puede ser reducida en plantas por reducción química de estos elementos y con la incorporación de componentes orgánicos dentro de éstas.

2.6.3 Biotransformación

Proceso en el cual un organismo vivo modifica una sustancia química. También la biotransformación es entendida como, una serie de eventos fisiológicos de un organismo para modificar las sustancias tanto endógenas como exógenas y transformarlas en metabolitos que puedan ser reabsorbidos y excretados.

2.6.4 Mecanismos de Reparación Celular

Un componente primario de resistencia celular a elevadas concentraciones de cobre consiste en la continua reparación de la membrana plasmática a altos niveles de cobre, ya que éste le produce daños continuos, los cuales se realizan con ayuda de un tipo de proteína (ACP) y la unión de esta a AcetilCoA.

2.7 Fitorremediación

La contaminación ambiental con metales y xenobióticos es un problema global, y el desarrollo de nuevas tecnologías por el cual las plantas limpien de manera natural los contaminantes, es sin duda, de gran interés. Las tecnologías de fitorremediación actualmente están disponibles para un grupo pequeño de contaminantes, entre los cuales se mencionan a los metales pesados (Merkl et al., 2004). La reducción del contenido de metales pesados hasta niveles óptimos permitiría la reutilización del suelo tratado con un fin agrícola, forestal, hortícola o recreativo, evitando la transferencia de éstos a aguas subterráneas o zonas cercanas por acción del viento y/o erosión del agua. Sin embargo, hay todavía muchas cuestiones sin resolver en relación a la evolución de estas características tan inusuales que presentan estas plantas (Baker et al., 2000; Schat et al., 2000; Macnair, 2003).

La fitorremediación viene a ser una tecnología *in situ*, no destructiva, de un bajo costo y está basada en la estimulación de microorganismos degradadores. Consiste en el uso de plantas, sus microorganismos o enzimas asociadas, así como de la aplicación de técnicas agronómicas para degradar, retener o reducir a niveles inofensivos los contaminantes ambientales, a través de procesos que logran recuperar la matriz o estabilizar al contaminante (Frick et al., 1999).

En la actualidad, la fitorremediación no es una tecnología disponible comercialmente, los progresos en el campo son limitados por falta de conocimiento de las interacciones complejas en la rizosfera y los mecanismos de plantas hiperacumuladoras que permiten la translocación del metal y su acumulación.

Estudios previos sugieren que los microorganismos rizosféricos poseen mecanismos capaces de alterar la circulación de metales en el medio ambiente, con efectos subsecuentes en el potencial de la planta para su captación en la raíz (M. N. V. Prasad, 2003).

En la actualidad estos mecanismos se investigan o incluso se utilizan comercialmente para tratar una serie de contaminantes en diferentes situaciones. Los investigadores han encontrado que las plantas pueden utilizarse para el tratamiento de la mayor parte de los contaminantes, incluyendo hidrocarburos procedentes del petróleo, solventes clorados, pesticidas, metales, núcleos radiactivos, explosivos y nutrientes que se encuentran en exceso. Las especies seleccionadas para la fitorremediación lo son en función de su potencial para evapotranspirar agua, según las enzimas que producen, sus tasas de crecimiento y cosecha, por la profundidad de sus raíces y su habilidad para acumular contaminantes.

Las tecnologías convencionales para la remediación del agua y del suelo incluyen:

- Colado de suelos
- Facturación neumática
- Solidificación/estabilización
- Vitrificación
- Electrocinética
- Reducción /oxidación química
- Lavado de suelos
- Excavación, retirada y almacenamiento en otros lugares.

Éstas técnicas generalmente tienen un costo prohibitivo y su aplicación lleva mucho tiempo.

Fueron utilizados una gran variedad de recursos vegetales para su intermediación en el campo. Por ejemplo, los humedales artificiales, camas de juncos, y los sistemas de

plantas flotantes son bastante usuales para el tratamiento de varios tipos de aguas residuales y efluentes industriales. La adición, en suelos contaminados con metales pesados, de quelantes sintéticos como el ácido etildiaminotetracético (EDTA), ácido etilglicoldiaminotetracético (EGTA), ácido nitriloacético (NTA), citrato, oxalato, succinato, tartrato, salicilato, acetato, isocianato de amonio, entre otros, y arcillas naturales que contienen silicatos de aluminio, óxidos e hidróxido de hierro y aluminio, facilita la remediación al aplicar estos compuestos específicos para el crecimiento de las plantas. La aplicación de poliacrilatos cruzados, ha inhibido significativamente la absorción de metales pesados por las raíces, evitando la toxicidad por metales.

Las plantas productoras de quelantes metálicos han adquirido los mecanismos fisiológicos y moleculares de tolerancia a los metales y a su acumulación. Las plantas que pueden acumular metales cuando crecen en ecosistemas terrestres o acuáticos contaminados, pueden limpiar no sólo los metales sino también una gran variedad de xenobióticos, ayudando por tanto la descontaminación ambiental (M. N. V. Prasad, 2003).

La idea básica de la aplicación de este tipo de técnicas surgió hace muchos años y fue tomada de por un conjunto de científicos multidisciplinarios que investigaron acerca de este tipo de características especiales, desarrollando una idea de costo efectivo y tecnologías ambientalmente amigable.

La fitorremediación puede ser aplicada para ambos tipos de contaminantes (con orgánicos e inorgánicos), presentes en cualquier tipo de sustrato sólido o sustrato líquido inclusive partículas aéreas. La fitorremediación es básicamente dividida en las siguientes áreas (Salt, Smith, and Raskin 1998):

- Fitoextracción: usa plantas las cuales acumulan contaminantes como moléculas orgánicas o iones metálicos. Éstas son concentradas en diversos tipos de órganos de las plantas.
- Fitodegradación: se basa en el uso de sistemas asociados (plantas-microorganismos) para degradar contaminantes orgánicos.

- Rizofiltración: hace uso de las plantas de las raíces para absorción de contaminantes, principalmente metales de fuentes de agua.
- Fitoestabilización: utiliza plantas para reducir la formación de enlaces de los contaminantes en el ambiente.
- Fitovolatilización: es principalmente el uso de plantas para volatilizar contaminantes y el uso de plantas para captación de diferentes tipos de contaminantes aéreos (volátiles).

2.8 Tecnologías de la fitorremediación

La fitorremediación se lleva a cabo normalmente por microorganismos donde sus actividades pueden ser favorecidos por el incremento de nutrientes o incrementando la población microbiana en un proceso conocido como bioincrementación. Debido a la toxicidad de algunos metales se han establecido estándares nacionales e internacionales para diferentes tipos de metales principalmente en agua.

2.8.1 Fitoestabilización.

La fitoestabilización previene la propagación de los metales pesados en el suelo, así como también la filtración de los mismos en el suelo debido a la erosión. Las especies de plantas metalo-tolerantes con extensos sistemas de raíz y buena cubierta vegetal previenen la erosión por viento y agua de los metales pesados y por lo tanto pueden servir como estrategias de fitoestabilización. La inmovilización de los metales pesados dentro de la rizosfera está asociada con la precipitación de los éstos dentro del suelo, la absorción en la superficie de la raíz o la absorción y acumulación dentro de las raíces (Gaur y Adholeya, 2004; Göhre y Paszkowski, 2006).

2.8.2 Remediación por estimulación de la rizosfera mediante microbios (Fitoestimulación)

Este enfoque se limita a los contaminantes orgánicos, porque los microorganismos (o las enzimas de las plantas) son capaces de metabolizar compuestos orgánicos, pero no inorgánicos. Se ha tenido éxito en el campo con diversos contaminantes orgánicos, incluyendo pentaclorofenol (PFC)

sustancias explosivas y otros contaminantes orgánicos. Dado que la rizofiltración puede ser efectiva durante largos periodos de tiempo (por ejemplo, utilizando una cubierta vegetal permanente y dejando que actúe la biodegradación natural, es consistente el uso de atenuación natural como son muchos lugares (Rev. Int. Contam. Ambient. 21 (2) 91-100, 2005).

2.8.3 Fitovolatilización

Este método es una forma especializada de la fitoextracción, que puede utilizarse únicamente con aquellos contaminantes que sean volátiles. Los contaminantes inorgánicos como el mercurio o el selenio, cuando son absorbidos por las raíces, pueden convertirse a formas no tóxicas y ser volatilizados a la atmósfera desde las raíces, tallos y hojas.

Un mecanismo similar puede aprovecharse para el mercurio, aunque no existen plantas que de manera natural realizan esta tarea: se trata de utilizar mediante ingeniería genética genes bacterianos de reducción de mercurio, y ya hay datos de experimentos de laboratorio muy prometedores.

En cuanto a compuestos orgánicos, todavía no está demasiado claro hasta qué punto los solventes volátiles son remediados mediante volatilización o por biodegradación, en experimentos que demuestran la remoción de aguas freáticas por árboles u otras plantas, pero parece claro que la fitovolatilización juega algún papel en tales situaciones importantes y aprovechables (Rev. Int. Contam. Ambient. 21 (2) 91-100, 2005).

2.8.4 Transformación de compuestos inorgánicos y orgánicos

Una forma especializada de fitoextracción que se basa en la habilidad de ciertas plantas para metabolizar o degradar contaminantes orgánicos, gracias a la presencia de enzimas o sistemas enzimáticos específicos. En este caso, los contaminantes, una vez tomados por la planta, son degradados o mineralizados completamente dentro de las células. Esta técnica ha sido demostrada con algunos contaminantes orgánicos como el TNT, tanto en suelos como en aguas. También existe evidencia experimental incluyendo estudios de campo, los cuales muestran que contaminantes como hidrocarburos que son absorbidos y metabolizarlos en álamos.

2.8.5 Rizofiltración

Es una técnica de fitorremediación que usa raíces de plantas para descontaminar agua superficial, subterránea o efluentes líquidos contaminados con metales pesados, toxinas orgánicas, entre otros elementos; en donde el elemento contaminante se absorbe, forma complejos e interacciona con las raíces, de modo que se acumula en las raíces, ya sea externa o internamente. La cosecha y procesamiento de las raíces les permite eliminar el contaminante del agua. (Dushenkov, 2003).

La rizofiltración es una de las opciones que presenta mejor relación de costo-beneficio respecto a otros métodos empleados para el tratamiento de efluentes líquidos. Además, es estética y naturalmente amigable con el ambiente, por lo que se presenta como una forma de descontaminación socialmente aceptable para las comunidades circundantes y para los organismos de control respectivos (Huang et al., 1998).

Con respecto a la rizofiltración, la principal experiencia en la descontaminación de aguas contaminadas con plomo y uranio ha sido realizada en Ashtabula, Ohio, Estados Unidos de Norteamérica, a nivel piloto, con girasol (Dushenkov, et al., 1997; Dushenkov, 2003). La remolacha (*Beta vulgaris*) es otra especie vegetal con capacidad de acumular plomo y uranio desde los suelos o en cultivos hidropónicos (Ebbs et al., 1998; Shahardeh y Hossner, 2002).

2.8.6 Fitoextracción

La fitoextracción o fitoacumulación se refiere a la concentración y traslocación, a través de las raíces, de contaminantes metálicos presentes en el suelo hacia diferentes partes cultivables de la planta, dando como resultado la limpieza permanente del sitio.

Es la tecnología más reconocida entre todas las de este tipo, por lo que se detalla más adelante. La fitoextracción de metales contaminantes metálicos de suelos es, hasta la fecha, uno de los campos con mayores avances científicos y tecnológicos. Durante este proceso, el contaminante debe encontrarse biodisponible para que la absorción por la raíz pueda ocurrir. La

traslocación (movimiento) del contaminante desde la raíz a los brotes de la planta, hace que el tejido pueda cultivarse fácilmente y disminuye la exposición de los trabajadores. En la práctica, las plantas acumuladoras de metales se siembran o trasplantan al sitio contaminado y se cultivan con prácticas agrícolas comunes.

Para mejorar el proceso de fitoextracción, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelantes (Prasad y Freitas. 2003). Con este principio, existen dos estrategias básicas (Salt et al. 1998):

- Fitoextracción asistida por quelantes: la adición de agentes quelantes al suelo favorece la acumulación de metales en partes cultivables de una planta. Los agentes quelantes incrementan la solubilidad de metales en el suelo. Este proceso es el que se encuentra más desarrollado y disponible comercialmente.
- Fitoextracción continúa de largo plazo: se basa en procesos fisiológicos especializados que permiten la acumulación de metales durante todo el ciclo de crecimiento. Las plantas con esta capacidad pueden acumular, de forma natural, metales (> 1%) como Zn, Ni, Se o Mn.

La velocidad de remoción de un contaminante depende de la biomasa reunida durante la cosecha, del número de cosechas por año y de la concentración del metal en la biomasa cosechada. El éxito de la fitoextracción depende principalmente de: la capacidad de la especie para acumular grandes cantidades del contaminante (1-3% en biomasa en peso seco) en sus tejidos cultivables, y de la capacidad para producir grandes cantidades de biomasa en corto tiempo (Cunningham y Ow, 1996, Prasad y Freitas, 2003).

2.8.7 Plantas acumuladoras e hiperacumuladoras de metales pesados

El uso de plantas hiperacumuladoras de metales para la limpieza de suelos contaminados es una de las principales estrategias de fitoextracción que actualmente se están desarrollando (Lombi et al, 2001). Las plantas hiperacumuladoras tienen la capacidad de absorber y traslocar a sus hojas, grandes cantidades de metales, como Co, Cu, Ni o plomo, alcanzando

concentraciones de más de 1000 mg kg⁻¹ de metal en hoja o más de 10,000 mg kg⁻¹ de Zn y Mn (Baker et al, 2000).

Una gran variedad de especies de plantas son capaces de colonizar suelos degradados por actividades mineras, si les damos la oportunidad y el tiempo necesario; son las especies metalófitas.

Las plantas metalófitas han desarrollado mecanismos biológicos que les permiten sobrevivir en suelos ricos en metales, tanto naturales como antropogénicos. La mayoría consigue su tolerancia restringiendo fisiológicamente la entrada de metales a las raíces y/o el transporte hacia las hojas. Algunas especies, sin embargo, presentan mecanismos extremadamente especializados que les permiten acumular o "hiperacumular" metales (como As, Cd, plomo, Co, Ni y Zn) en sus hojas, hasta alcanzar concentraciones superiores al 2% de su materia seca: son las denominadas "plantas hiperacumuladoras". Algunas plantas tienen la capacidad para acumular concentraciones de metales 10 a 500 veces mayores que otras especies, alcanzando de 1 a 5% del peso seco de la planta.

Investigaciones más recientes e identificado otras plantas hiperacumuladoras, destacando *Brassica juncea* y *Brassica nigra*, las cuales tienen capacidad de acumulación de plomo. Recientemente un equipo de investigación de la Universidad de Guelph, ha descubierto que los geranios con olor a limón (*Peargonium sp.*), son capaces de acumular grandes cantidades de cadmio, plomo, níquel y cromo extraídos del suelo en experimentos de invernadero (M. N. V. Prasad, 2003).

2.9 El molle, clasificación y características

El Aguaribay, Gualaguay, o Anacahuita (*Schinus molle*), es un árbol siempre verde de unos 10 a 12 m de altura, de ancha copa, de ramaje colgante y de aspecto "llorón".

2.9.1 Morfología:

De Tronco corto y grueso, muy fisurado y con la corteza que se desprende en placas. La corteza exuda resinas muy aromáticas. Hojas paripinnadas, de 25-30 cm de longitud dispuestas en ramillas colgantes en zigzag. Tienen de 14 a

30 folíolos de forma linear-lanceolada y borde algo dentado, sobre todo los jóvenes, casi sin pecíolo. Las Inflorescencias son muy ramificadas, largas, colgantes y con flores pequeñas de color blanco verdoso de especie dioica. Florece de abril a julio, los frutos son drupáceos globosos, de color rojo que permanecen en el árbol por bastante tiempo (Sánchez de Lorenzo, 2007).

2.9.2 Distribución:

Originario de la región andina de Sudamérica y principalmente en Perú, aunque se extiende desde Ecuador, Chile y Bolivia. Vive en los Andes Peruanos a altitudes de hasta 3,650 m. Ampliamente distribuido en México, Centroamérica, sur de California y oeste de Texas en los Estados Unidos (Chacalo Hilu, Alicia y Rafael Fernández Nava. 1995) (Sánchez de Lorenzo, 2007).

2.9.3 Hábitat:

Prospera a la orilla de caminos, en zonas perturbadas con vegetación secundaria, en pedregales y lomeríos, y en terrenos agrícolas. Crece en climas subtropicales, cálidos - templados, semiáridos, templados secos y templados húmedos. No tiene exigencias en cuanto a suelo, pero prefiere suelos arenosos. Tolerancia a texturas pesadas, suelos muy compactados y pedregosos (Sánchez de Lorenzo, 2007).

2.9.4 Clasificación botánica (Gundidza, 1993):

Reino: Plantae

División: Fanerógama Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Género: *Schinus*

Especie: *S. molle*

2.9.5 Importancia y usos:

Las ventajas del cultivo del molle se basan en la gran plasticidad edáfica, climática, y por su rápido crecimiento, permitiendo su aplicación en diversos usos. Se asocia con los cultivos agrícolas sin incompatibilidades, también se le conoce por su protección y se le llama cortinas rompe vientos ya que esta da protección a las riberas y a la conservación de cuencas, etc. (Muñoz et al 1993).

En Argentina es considerado como árbol protector de cultivos, plantándose entre las hileras de los cítricos. Es muy útil para detener los fuertes vientos provenientes de los valles cordilleranos.

En Perú es utilizado como árbol de linderos para proteger a la finca de la entrada de animales y como árbol rompe vientos. También se emplea como estabilizador de médanos y en control de dunas (Brussa y Grela (2007).

En Chile se ubica en ambientes favorables desde el extremo norte del país, especialmente en las cercanías de Copiapó donde alcanza gran desarrollo y es considerado un recurso de protección. En la IV Región, en un sector con menos de 100 mm de precipitación anual, se ha utilizado con éxito en plantaciones ubicadas en suelos muy delgados y exposiciones asoleadas, pero con lento crecimiento. (Dubcovsky et al (1997).

La corteza del molle presenta una importante cantidad de extraíbles químicos: taninos, oleorresinas, ácido linoleico, erúcico y lignocérico. Las hojas también presentan taninos, flavonoides libres, carbohidratos, saponinas, ácido linoleico, behémico, lignocérico, y además de triterpenos y glicósidos. Las hojas se utilizan para el teñido de las lanas, proporcionando un tinte amarillo (Sánchez de Lorenzo, 2007).

Las semillas contienen ácido linoleico. El aceite extraído de las semillas presenta actividad fungotóxica y puede ser efectiva como fungicida natural. Se ha comprobado que la variación estacional afecta la concentración de los aceites en la semilla (Brussa y Grela (2007).

De las hojas se extrae un aceite aromatizante que se usa en enjuagues bucales y como dentífrico. Las semillas contienen aceites de los cuales se obtiene un fijador que se emplea en la elaboración de perfumes, lociones, talcos y desodorantes (Morales 2009).

Las hojas secas, especialmente para los campos de maíz; remojar las semillas de maíz en agua que contiene ramas y frutos del molle, proceso mediante el cual se adhiere abono catalítico (en quechua rokeska), que se utiliza en la preparación doméstica de compost o abono orgánico.

El cocimiento de hojas, ramas, corteza y raíz se emplea para el teñido amarillo pálido de tejidos de lana. (Morales 2009).

Siendo la ceniza rica en potasa, se le usa como blanqueador de ropa; igualmente en la purificación del azúcar, en la confección de tejidos (para oscurecer el amarillo después de teñida la lana), para hacer jabón (Morales 2009; Perú 2007).

Las semillas molidas se usan como pimienta blanca y las enteras como pimienta rosada. Con la cubierta dulce de las semillas se prepara chicha y la leche de molle, que es una chicha no fermentada que adelgaza sin debilitar. La miel de molle se elabora hirviendo el líquido de los frutos maduros hasta que toma consistencia de jarabe (Sánchez, 1999).

Su resina blanquecina es usada como goma de mascar, se dice que fortalece las encías y sana las úlceras de la boca (Morales 2009).

El molle es usado como antirreumático, purgante, cefalálgico, cicatrizante, depurativo de la sangre y antiespasmódico. También combate malestares de riñón, vejiga e hígado, así como diversos dolores corporales y algunas afecciones respiratorias (Sánchez, 1999).

Con el fin de repeler algunas plagas, se entierran ramitas de molle en los surcos de los campos de cultivo. También se sabe que las hojas puestas entre la ropa pueden eliminar polillas y otras (Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú - Antonio Brack).

El molle es una planta con actividad antifúngica y antimicrobiana principalmente en las hojas (Gundidza, 1993). Además, tiene importancia etnobotánica, pues se la ha utilizado en el control de plagas agrícolas en varias localidades del Perú (Rodríguez & Egúsquiza, 1996). En el Perú no existen protocolos validados y estándares de bioensayo de evaluación con diferentes especies de controladores biológicos, para determinar el efecto de los plaguicidas en ellos. Sin embargo, se han desarrollado diferentes protocolos de bioensayos para determinar el efecto de plaguicidas sobre la fauna benéfica (Calow, 1993; Iannacone et al. 2000; Iannacone & Alvariño, 2005).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Reactivos

- Solución nutritiva Hoagland diluida 50%.
- Nitrato de calcio hidratado
- Nitrato de plomo
- Buffer fosfato
- Ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico
- Agua destilada
- Agua de clorada
- Malondialdehído

3.1.2 Equipos

- Espectrofotómetro UV-VIS
- Estufa
- Balanza analítica
- Cámaras de crecimiento

3.1.3 Instrumentos

- Tijera
- Baldes
- Vaso de precipitados
- Pipetas
- Mortero
- Varilla
- Mechero
- Papel filtro, papel toalla
- Tubo de ensayo

3.1.4 Material vegetal

- Semillas de *Schinus molle*.

3.2 Método

3.2.1 Lugar de ejecución:

El trabajo se realizó en el laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal, del departamento Académico de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa durante los meses de enero 2015 a diciembre 2015.

3.2.2 Recolección del material vegetal

Se colectaron semillas de *Schinus molle* de la localidad de Mollebaya, Arequipa, Perú. Altitud: 2505 m.s.n.m. Latitud: 16°29'18". Longitud: 71°28'07".

3.2.3 Tratamiento de Semillas y crecimiento de plántulas

Las semillas fueron lavadas con agua corriente y esterilizadas con una solución de hipoclorito de sodio al 1%, luego fueron enjuagadas y remojadas en agua hervida a 37 °C por 3 días, cambiando cada día el agua.

Las semillas se sembraron en macetas conteniendo ½ kg de arena: musgo (1:1, v/v), previa hidratación de éstas. Se colocaron 6 semillas por maceta y una vez emergidas, se seleccionaron la planta más vigorosa. Las macetas fueron regadas cada tres días hasta alcanzar su capacidad de campo. Posteriormente, plántulas de cuatro semanas de edad fueron trasplantadas en macetas de plástico con 2 kg de sustrato (como se describió anteriormente) estas crecieron en un sombreadero y fueron regadas a capacidad de campo (50 mL) 3 veces por semana con agua destilada, para que veamos realmente los efectos causados solo por el plomo, sin la intervención de algún otro elemento o compuesto que hubiese contenido el agua corriente. Además, recordemos que esta es una investigación a nivel de laboratorio, donde las condiciones son controladas en su mayoría. Se midió el pH y conductividad al inicio y final del experimento.

3.2.4 Tratamiento de sustrato

A. Preparación del sustrato

Se preparó un sustrato conteniendo, tierra de chacra: arena lavada (1:2 v/v), estiércol (10 g/maceta) y musgo (40 g/maceta) y se determinó su capacidad de campo. Luego se dejó secar al medio ambiente por aproximadamente 10 días, seguidamente se rehidrato con la solución mineral de Hoagland al 50% (ver tabla N°2) hasta alcanzar su capacidad de campo. Luego, se regó durante 9 días con agua destilada cada 3 días. El sustrato preparado se sometió a un análisis de suelo inicial y al final de cada experimento.

Tabla N° 2. Composición de la Solución mineral stock según Hoagland completa.

SIMBOLO	COMPUESTO	CONCENTRACIÓN	
		Molaridad	g/L
A	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1.00 M	236.00
B	KNO ₃	1.00 M	101.00
C	MgSO ₄ .7H ₂ O	1.00 M	247.00
D	KH ₂ PO ₄	1.00 M	136.00
E	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .2H ₂ O	0.01 M	2.70
F	K ₂ SO ₄	0.05 M	87.00
G	CaSO ₄ .2H ₂ O	0.01 M	1.70
H	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	1.00 M	256.00
I	Micronutrientes	MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81
		ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22
		H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0.10
		H ₃ BO ₃	2.86
		CuSO ₄ .5H ₂ O	0.10
J	Fe-EDTA		10.00

B. Contaminación y tratamiento con plomo.

Después de 12 días, el sustrato fue contaminado con plomo utilizando una solución de nitrato de plomo Pb (NO₃)₂ alcanzando la concentración de 30 mg/Kg. Los tratamientos fueron aplicados por única vez. Se realizaron diez réplicas por tratamiento. Al tratamiento control sólo se aplicará agua destilada.

Luego de 10 días de realizada la contaminación con plomo, se añadió el EDTA en solución (0,25 g/kg) para el primer experimento. El segundo experimento consistió en aplicar el fertilizante (5g/L) (Ver tabla N° 3). En

el tercer experimento se aplicó lombricompost (20 g/Kg) y en el cuarto experimento se realizó una interacción entre EDTA-Lombricompost 0.25 g/Kg y 20 g/Kg respectivamente.

Las concentraciones aplicadas del EDTA, lombricompost y fertilizante, fueron aplicadas en base a investigaciones ya realizadas por otros autores, y según la dosis aplicada en campos de cultivo. Se aplicó por única vez, para no causar alteraciones en la respuesta morfo-fisiológicas, y poder observar las verdaderas respuestas de acuerdo al periodo de crecimiento establecido. Además, porque las observaciones en investigaciones anteriormente realizadas, nos indican que *Schinus molle* presenta una tasa de crecimiento rápido, elevándose la demanda de nutrientes, entonces con esta aplicación única no afectaríamos su proceso de crecimiento y desarrollo.

Las plantas seleccionadas fueron trasplantadas a dichas macetas que fueron dispuestas con un diseño experimental al azar.

Tabla N° 3. Componentes del Fertilizante Nitromax.

COMPONENTES	CONCENTRACIÓN (°/° p/p)
Nitrógeno total (N) ureico	30
Anhídrido fosfórico (P ₂ O ₅) soluble en agua	10
Oxido potásico soluble en agua (K ₂ O)	10
Anhidro fosfórico (P ₂ O ₅) soluble en agua	4.5
Cobre quelatado (Cu)	0.36
Hierro quelatado (Fe)	0.06
Manganeso quelatado (Mg)	0.03
Molibdeno quelatado (Mo)	0.002
Cinc quelatado (Zn)	0.08
Cobalto quelatado (Co)	0.005
EDTA (Agente Quelante)	1.6
Magnesio	0.60
Boro	0.03
Azufre	0.21

Nota: Recuperado de Composición química del fertilizante Nitromax.

Tabla N° 4. Composición de nutrientes del lombricompost

<i>Parameters</i>	<i>Values</i>	<i>S.D.</i>
pH	6.8	±0.173
EC [‡] dS m ⁻¹	10.55	±0.01
Total C %	13.5	±0.7
Total N %	1.33	±0.015
Available P %	0.47	±0.09
Sodium mg /100g	354.68	±9.44
Magnesium mg/100g	832.48	±22.48
Iron mg/100g	746.26	±23.39
Zinc mg/100g	16.19	±0.55
Manganese mg/100g	53.86	±2.84
Copper mg/100g	5.16	±0.36

† Values are averages of three replicates ± S.D.

‡ Electrical conductivity.

Nota: Recuperado de Phytorremediacion: the application of vermicompost to remove Zinc, Cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant.

3.2.5 Evaluación de plantas

Después de haber alcanzado un tamaño aproximado de 30 cm durante 21 semanas, las plantas fueron cosechadas cuidadosamente y enjuagadas con agua destilada para retirar todos los restos de sustrato y luego divididas en raíces, tallos y hojas.

Se determinaron parámetros de crecimiento y parámetros bioquímicos. También, se realizó un análisis de la concentración de plomo en el suelo y la planta (raíz y hojas).

A. Parámetros de crecimiento

El crecimiento de las plantas de *Schinus molle* se determinó mediante el peso seco y fresco de las raíces, tallos y hojas, y la longitud de la raíz y tallo. Las raíces, tallos y hojas serán desecados en estufa a 65 ° C hasta un peso constante para la determinación de la biomasa.

Relación vástago/raíz: Las muestras en peso seco de vástagos y raíces de plantas en estudio fueron relacionadas, calculando este cociente como lo describe (Liu et al., 2007).

B. Parámetros fisiológicos

a. Determinación de peroxidación lipídica

El nivel de los productos de la peroxidación lipídica fue estimado midiendo la concentración de malondialdehído (MDA) como un producto final de la peroxidación lipídica mediante la reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA).



Figura N° 1: Lectura del sobrenadante de la extracción de hojas de *Schinus molle* para la determinación de concentración de malondialdehído a 532 y 600 nm.

Se tomó 150 mg de hojas frescas y se homogenizó en un mortero con 2.5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 0.2%. Se añadió una alícuota igual de (TCA) al 20% conteniendo (TBA) al 0.5%. Seguidamente la solución se calentó a 95°C por 25 minutos, enfrió y se centrifugó por unos 20 minutos a 1000 rpm. El sobrenadante se colocó en tubos de prueba para luego medir la absorbancia a 532 nm. Se realizó una corrección de la turbidez no específica mediante la sustracción del valor de la absorbancia tomado a 600 nm.

b. Determinación de la concentración de pigmentos fotosintéticos.

Para la determinación de clorofila se pesó 50 mg de hojas (peso fresco), luego estas muestras fueron colocadas en un mortero añadiéndose 2.5 mL de metanol en agua 90% fría v/v, para ser molidas. Luego se filtró (con papel Whatman N°1) la muestra y se colocó en un tubo volumétrico de 10

mL. El mortero y el papel filtro fueron enjuagados una vez con 3 mL de solución acuosa de metanol. Para completar los 2.5 mL del tubo. Luego se midió la extinción de la solución verde haciendo uso de un espectrofotómetro UV-VIS (modelo UNICO) a 662, 644 y 440 nm.



Figura N° 2: Filtración de extracto de hojas de *Schinus molle* para la determinación de concentración de pigmentos fotosintéticos.

La concentración de clorofila se calculó en ug/mL midiendo la extinción a 662nm (clorofila “a”), 644 nm (clorofila “b”) y 440 nm (carotenos) contra un blanco de solvente. La extinción medida se realizó para cada pigmento según las formulas descritas líneas abajo.

Todas las determinaciones fueron realizadas por quintuplicado para cada concentración.

$$\text{Clorofila "a" (ug/mL)} = 16.82 \times E_{662} - 9.28 \times E_{644}$$

$$\text{Clorofila "b" (ug/mL)} = 36.92 \times E_{644} - 16.54 \times E_{662}$$

$$\text{Carotenos (ug/mL)} = (1000 \times E_{440} - 1.91 \times \text{Cl. "a"} - 95.15 \times \text{Cl. "b"}) / 225$$

c. Determinación de catalasa

Se realizó según la metodología modificada de permanganato/peróxido (Ulrich 1974 citado por Melgarejo et al., 2010).

Extracción enzimática: Se pesó 0.10 g de hojas frescas luego estas fueron colocadas en un mortero previamente enfriado para ser molidas, sobre cama de hielo, para ser homogenizadas se añadió 5 mL buffer fosfato de sodio a 110 mM pH de 7,2 contiene pvp -40. Luego se agito durante una hora en cama de hielo, después se centrifugó a 8500 rpm a 4 °C por 1 hora. Al finalizar se separó el sobrenadante (extracto proteico) para la determinación de proteína total y actividad enzimática catalasa.

Determinación enzimática catalasa (CAT): En cada tubo se adicionó 1 mL de buffer fosfato de sodio 50 mM pH 7.6, 600 ul de H₂O₂ 3% (v/v) (1,235M), y se adicionó 250 ul de extracto enzimático, en este momento inicia la reacción enzimática de descomposición de H₂O₂ por (CAT). Después de cinco minutos exactos, se adicionó 5mL de ácido sulfúrico 2N, para desnaturalizar la enzima y detener la reacción. Se deben colocar entre 37 y 38 °C (temperaturas diferentes conducen a resultados pocos reproducibles).

Al finalizar se tituló gota a gota con permanganato de potasio (KMnO₄) 0.01M estandarizado.



Figura N° 3: Reacción enzimática de descomposición del H₂O₂ por (CAT) en baño maría a 37 °C.

d. Determinación de proteína soluble

La determinación se realiza con base en la metodología descrita por Bradford (1976).

Se utilizó el extracto enzimático obtenido del procedimiento de (CAT), se tomó 200 ul del extracto y se añadió 5 mL de colorante azul brillante de coomassie (100 mg de coomassie brilliant blue G-250, 50 mL de etanol 95% y 100 mL de ácido fosfórico al 85%, completando con agua destilada hasta un litro), luego de 2 minutos y antes de una hora las muestras se llevaron al espectrofotómetro donde se leyó su absorbancia a 595 nm. Los valores de proteína soluble se calculan frente a una curva estándar de albúmina de suero de bovino (BSA), que cubre un rango entre 5 – 500 ug/mL, de acuerdo a la metodología descrita por Bradford (1976) los valores obtenidos se transformaron a mg/g P.S. ($r=0.991$).

3.2.6 Determinación de plomo en plantas

La determinación de la acumulación de plomo en raíces, hojas y tallos se realizó cosechando las plantas y secándolas en una estufa a 65°C durante 72 horas, hasta peso constante. Las muestras fueron empaquetadas, rotuladas y llevadas a un laboratorio especializado de la ciudad de Arequipa. Los análisis se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica.

Se calculó el índice de bioconcentración de acuerdo a Olivares y Peña (2009) en la raíz de *Schinus Molle* a través de la siguiente fórmula.

$$IB = (CPb \text{ en el Tejido Vegetal (raíz, parte aérea) / CPb del suelo}) \cdot 100$$

Dónde: IB = Índice de bioconcentración

3.2.7 Evaluación de sustrato

La determinación de las características y acumulación de plomo en el sustrato se realizó tomando muestras representativas del suelo al inicio y al final de cada experimento. Las muestras fueron empaquetadas, rotuladas y llevadas a un laboratorio especializado de la ciudad de Arequipa. Se realizaron análisis completos de suelo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Respuesta morfológica

3.1.1 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en longitud de la raíz.

Se distingue en la figura 5, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el control presenta una mayor longitud radicular frente a los demás tratamientos que muestran una longitud menor. También se puede observar que, si bien no existen diferencias estadísticas, existen diferencias matemáticas entre cada tratamiento debido tal vez a los diferentes compuestos que están en interacción con el sistema suelo-planta, siendo el tratamiento con lombricompost el que presenta una longitud de raíz moderada viéndose de esta manera un efecto favorable para el crecimiento radicular. Lo cual señala que la longitud radicular frente a este metal pesado se ve afectada por el mismo.



Figura N° 4: Comparación de las medidas de crecimiento entre plantas de *Schinus molle* con diferentes tratamientos. De izquierda a derecha tratamiento con Fertilizante, EDTA-Lombricompost, EDTA, lombricompost, control y testigo.

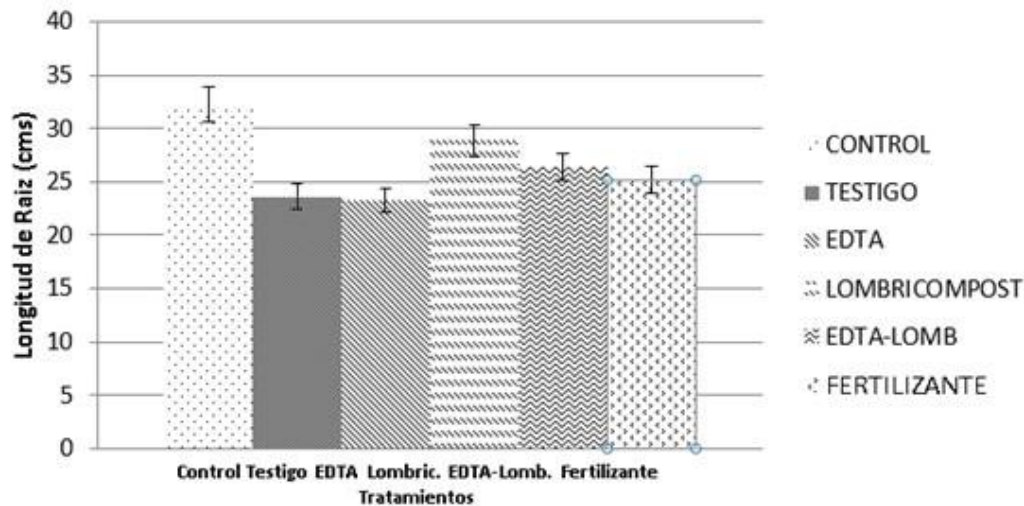


Figura N° 5: Longitud de la raíz (cm) de *Schinus molle* por el efecto de la influencia de plomo, EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 5. Análisis de varianza de un factor de la longitud de raíz (cm) en plantas de *Schinus molle*

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	512,568	5	102,514	4,996	,001
Intra-grupos	1026,021	50	20,520		
Total	1538,589	55			

Tabla N° 6. Comparaciones múltiples de la longitud de raíz en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	8,65000*	2,26497	,005	1,9388	15,3612
	EDTA	9,01750*	2,14874	,001	2,6507	15,3843
	LOMBRICOMPOST	3,39250	2,14874	,616	-2,9743	9,7593
	EDTA-LOMB.	5,88250	2,14874	,086	-,4843	12,2493
	FERTILIZANTE	7,10250*	2,14874	,021	,7357	13,4693
TESTIGO	CONTROL	-8,65000*	2,26497	,005	-15,3612	-1,9388
	EDTA	,36750	2,14874	1,000	-5,9993	6,7343
	LOMBRICOMPOST	-5,25750	2,14874	,160	-11,6243	1,1093
	EDTA-LOMB.	-2,76750	2,14874	,790	-9,1343	3,5993
	FERTILIZANTE	-1,54750	2,14874	,979	-7,9143	4,8193
EDTA	CONTROL	-9,01750*	2,14874	,001	-15,3843	-2,6507
	TESTIGO	-,36750	2,14874	1,000	-6,7343	5,9993
	LOMBRICOMPOST	-5,62500	2,02585	,078	-11,6277	,3777
	EDTA-LOMB.	-3,13500	2,02585	,636	-9,1377	2,8677
	FERTILIZANTE	-1,91500	2,02585	,933	-7,9177	4,0877
LOMBRICOMPOST	CONTROL	-3,39250	2,14874	,616	-9,7593	2,9743
	TESTIGO	5,25750	2,14874	,160	-1,1093	11,6243
	EDTA	5,62500	2,02585	,078	-,3777	11,6277
	EDTA-LOMB.	2,49000	2,02585	,821	-3,5127	8,4927
	FERTILIZANTE	3,71000	2,02585	,456	-2,2927	9,7127
EDTA-LOMB.	CONTROL	-5,88250	2,14874	,086	-12,2493	,4843
	TESTIGO	2,76750	2,14874	,790	-3,5993	9,1343
	EDTA	3,13500	2,02585	,636	-2,8677	9,1377
	LOMBRICOMPOST	-2,49000	2,02585	,821	-8,4927	3,5127
	FERTILIZANTE	1,22000	2,02585	,990	-4,7827	7,2227

FERTILIZANTE	CONTROL	-7,10250*	2,14874	,021	-13,4693	-,7357
	TESTIGO	1,54750	2,14874	,979	-4,8193	7,9143
	EDTA	1,91500	2,02585	,933	-4,0877	7,9177
	LOMBRICOMPOST	-3,71000	2,02585	,456	-9,7127	2,2927
	EDTA-LOMB.	-1,22000	2,02585	,990	-7,2227	4,7827

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 7. Prueba específica de Tukey para la longitud de raíz (Cm.) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
EDTA	10	23,2450	
TESTIGO	8	23,6125	
FERTILIZANTE	10	25,1600	
EDTA-LOMB.	10	26,3800	26,3800
LOMBRICOMPOST	10	28,8700	28,8700
CONTROL	8		32,2625
Sig.		,100	,076

Existe escasa información acerca del efecto que ejerce el plomo en *Schinus molle*, pero se sabe que este metal produce un efecto notable en la nutrición mineral de las plantas (Seregin e Ivanov, 2001) y por ende una reducción e inhibición en el crecimiento y desarrollo de la raíz (Breckle, 1991), ya que estas actúan como una barrera contra la traslocación de metales pesados a la parte superior (Mazhoudi et al. 1997).

En este estudio se observó que las menores longitudes de raíz se obtuvieron en todos los tratamientos que contenían plomo 30 mg/Kg, reforzando el trabajo de Geebelen et al. (1999) que encontró una reducción visible del crecimiento de la raíz de *P. vulgaris* en 80 mM plomo. Dongua (1993) indicó que el plomo ($10^{-4}M$) inhibe el crecimiento de la raíz de *Allium cepa*, además que existe una interferencia con la elongación de la raíz, siendo necesario para este proceso el calcio que es sustituido por el plomo. García (2006) muestra claramente que el plomo afectó el crecimiento de la raíz de *Zea mays* de forma muy rápida, a las 48 h de tratamiento, con y sin EDTA, lo cual muestra claramente que el agente responsable de la inhibición del crecimiento radicular es el plomo. Por otra parte, Rondón (2014) muestra que la longitud de la raíz de *Schinus molle* no es afectada por las concentraciones de plomo 20 ppm, indicando que ésta es una especie tolerante. Xiong (1998) sugiere que la razón principal para que la raíz sea usada como una medida para determinar la tolerancia de las plantas ante los metales pesados, es que ésta es más sensible a elementos tóxicos por ser un órgano especializado en

absorción, por lo cual es el primer órgano sometido a la presencia de contaminantes y por ende a presentar los efectos tóxicos.

Obrucheva et al. (1998), Observó que la longitud de la raíz de *Zea mays* tratada con bajas concentraciones de plomo disminuyen, pero eso no significó que el peso seco de las mismas disminuya.

Chhotu y Madhusudan (2008) trabajaron con vermicompost e indicaron que se puede utilizar para remediar suelos con metales pesados. Pues este vermicompost o lombricompost aumenta la absorción de nutrientes, proporcionando tales como sodio, magnesio, hierro, zinc, manganeso y cobre que puede servir como un fertilizante natural que da un alto rendimiento de la biomasa microbiana y el consorcio ayudado al crecimiento general de la planta de girasol.

Adam et al (2006) nos muestran que en su investigación usaron dosis de 5 ppm y 10 ppm de Cd, Ni, Pb y Cu que promovieron el crecimiento de las raíces de las plantas. Los metales pesados Ni y Pb; en el nivel 20 ppm aumentado aún más el crecimiento de las raíces sobre la raíz de control, reduciendo el tamaño de la raíz a concentraciones de 40 y 50 ppm. Además de ello se produjo un aumento de la concentración de metales pesados proporcionalmente a la concentración de vermicompost pero un descenso en el crecimiento de la longitud de las raíces secundarias, en comparación con el tratamiento control sin metales pesados (Cd, Pb, Cu y Ni),

Nandkumar et al. (1995) demostraron que el crecimiento de las raíces de plantas de girasol tratados con plomo fue retrasado en comparación con los controles. Boonyapookana et al (2005) Encontraron resultados similares usando *H. annuus* en suelos contaminados con plomo (2,5 mM). Según Chaignon y Hinsinger (2003), las concentraciones más altas del cobre pueden inhibir el crecimiento de las raíces antes del crecimiento de los brotes, pudiendo acumularse el plomo, en las raíces sin ningún aumento significativo de su contenido de las partes aéreas. Pudiendo aplicarse esto en nuestra investigación; recordando que cada planta posee respuestas morfológicas y fisiológicas distintas, dependiendo de las condiciones en las que se desarrolle;

entonces el hecho de que el tratamiento con lombricompost presente una mejor longitud, no quiere decir que haya acumulado mayor cantidad de plomo.

3.1.2 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de la raíz.

Se distingue en la figura 6, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el lombricompost presentan mayor peso fresco de raíz, seguido del control, testigo, EDTA, EDTA-Lombricompost y fertilizante que presenta el menor peso radicular de todos.

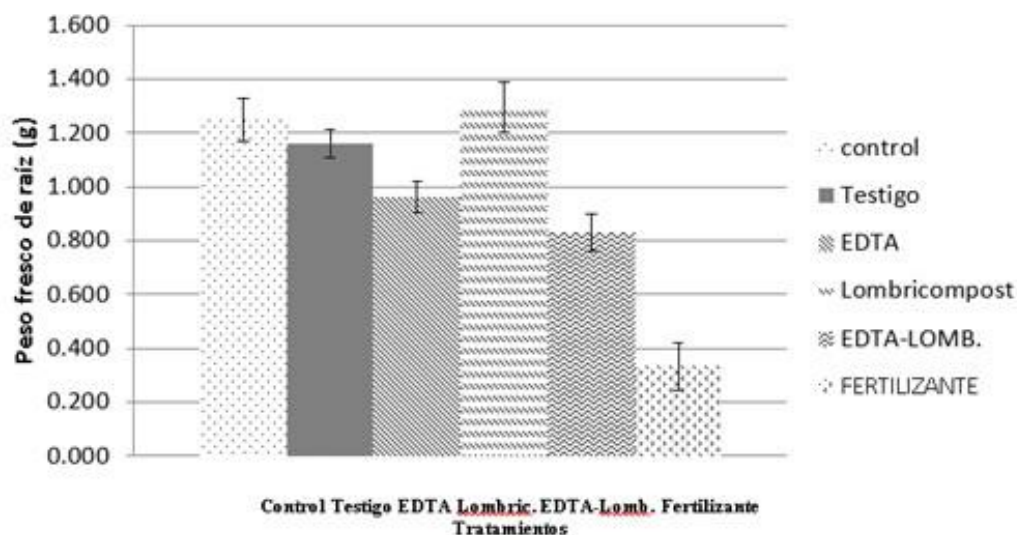


Figura N° 6: Peso fresco de la raíz (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 8. Análisis de varianza de un factor del peso fresco de raíz (g) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,435	5	,887	27,323	,000
Intra-grupos	1,169	36	,032		
Total	5,604	41			

Tabla N° 9. Comparaciones múltiples de peso de raíz en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-,0428571	,0963106	,998	-,332615	,246901
	EDTA	,2428571	,0963106	,145	-,046901	,532615
	LOMBRICOMPOST	-,0714286	,0963106	,975	-,361186	,218329
	EDTA-LOMB.	,4657143*	,0963106	,000	,175957	,755472
	FERTILIZANTE	,8300000*	,0963106	,000	,540242	1,119758

TESTIGO	CONTROL	,0428571	,0963106	,998	-,246901	,332615
	EDTA	,2857143	,0963106	,055	-,004043	,575472
	LOMBRICOMPOST	-,0285714	,0963106	1,000	-,318329	,261186
	EDTA-LOMB.	,5085714*	,0963106	,000	,218814	,798329
	FERTILIZANTE	,8728571*	,0963106	,000	,583099	1,162615
EDTA	CONTROL	-,2428571	,0963106	,145	-,532615	,046901
	TESTIGO	-,2857143	,0963106	,055	-,575472	,004043
	LOMBRICOMPOST	-,3142857*	,0963106	,027	-,604043	-,024528
	EDTA-LOMB.	,2228571	,0963106	,215	-,066901	,512615
	FERTILIZANTE	,5871429*	,0963106	,000	,297385	,876901
LOMBRICOMPOST	CONTROL	,0714286	,0963106	,975	-,218329	,361186
	TESTIGO	,0285714	,0963106	1,000	-,261186	,318329
	EDTA	,3142857*	,0963106	,027	,024528	,604043
	EDTA-LOMB.	,5371429*	,0963106	,000	,247385	,826901
	FERTILIZANTE	,9014286*	,0963106	,000	,611671	1,191186
EDTA-LOMB.	CONTROL	-,4657143*	,0963106	,000	-,755472	-,175957
	TESTIGO	-,5085714*	,0963106	,000	-,798329	-,218814
	EDTA	-,2228571	,0963106	,215	-,512615	,066901
	LOMBRICOMPOST	-,5371429*	,0963106	,000	-,826901	-,247385
	FERTILIZANTE	,3642857*	,0963106	,007	,074528	,654043
FERTILIZANTE	CONTROL	-,8300000*	,0963106	,000	-1,119758	-,540242
	TESTIGO	-,8728571*	,0963106	,000	-1,162615	-,583099
	EDTA	-,5871429*	,0963106	,000	-,876901	-,297385
	LOMBRICOMPOST	-,9014286*	,0963106	,000	-1,191186	-,611671
	EDTA-LOMB.	-,3642857*	,0963106	,007	-,654043	-,074528

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 10. Prueba específica de Tukey para el peso de raíz (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
FERTILIZANTE	7	,370000			
EDTA-LOMB.	7		,734286		
EDTA	7		,957143	,957143	
CONTROL	7			1,200000	1,200000
TESTIGO	7			1,242857	1,242857
LOMBRICOMPOST	7				1,271429
Sig.		1,000	,215	,055	,975

García (2006) muestra que no existen diferencias entre el peso fresco de la raíz de *Zea mays* con el tratamiento con plomo o EDTA e interacción entre ambos. También nos dice que los efectos sobre el crecimiento pueden deberse a diferentes causas, pudiendo ser una de ellas la existencia de efectos sobre la división celular que se traduzca en una posterior disminución del crecimiento, y por otra parte que pudo haber efectos sobre la tasa de elongación. Rondón (2015) observó en plantas de *Schinus molle* tratadas con 80 ppm que el peso fresco de la raíz no se ve afectado.

A diferencia de nuestro estudio que nos dice que el peso fresco de la raíz de *Schinus molle* se ve afectado por los distintos tratamientos, obteniendo el menor peso con fertilizante.

3.1.3 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de la raíz.

Se observa en la figura 7, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el control y lombricompost presentan mayor peso seco de raíz a diferencia del fertilizante que presenta el menor peso de todos.

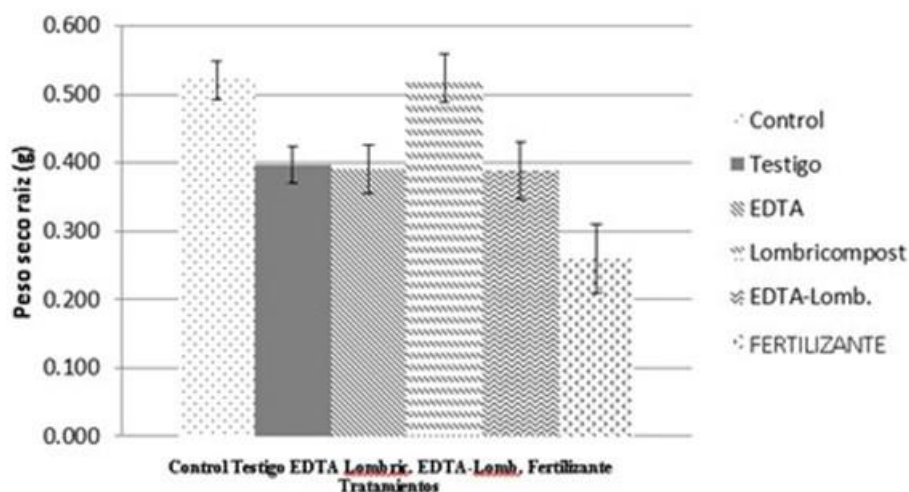


Figura N° 7: Peso seco de la raíz (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 11. Análisis de varianza de un factor del peso seco de raíz (g) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,358	5	,072	8,757	,000
Intra-grupos	,294	36	,008		
Total	,653	41			

Tabla N° 12. Comparaciones múltiples del peso seco de raíz en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	,1245714	,0483411	,129	-,020866	,270009
	EDTA	,1327143	,0483411	,091	-,012723	,278152
	LOMBRICOMPOST	-,0127143	,0483411	1,000	-,158152	,132723
	EDTA-LOMB.	,1195714	,0483411	,159	-,025866	,265009
	FERTILIZANTE	,2628571*	,0483411	,000	,117419	,408295

TESTIGO	CONTROL	-,1245714	,0483411	,129	-,270009	,020866
	EDTA	,0081429	,0483411	1,000	-,137295	,153581
	LOMBRICOMPOST	-,1372857	,0483411	,074	-,282723	,008152
	EDTA-LOMB.	-,0050000	,0483411	1,000	-,150438	,140438
	FERTILIZANTE	,1382857	,0483411	,070	-,007152	,283723
EDTA	CONTROL	-,1327143	,0483411	,091	-,278152	,012723
	TESTIGO	-,0081429	,0483411	1,000	-,153581	,137295
	LOMBRICOMPOST	-,1454286	,0483411	,050	-,290866	,000009
	EDTA-LOMB.	-,0131429	,0483411	1,000	-,158581	,132295
	FERTILIZANTE	,1301429	,0483411	,102	-,015295	,275581
LOMBRICOMPOST	CONTROL	,0127143	,0483411	1,000	-,132723	,158152
	TESTIGO	,1372857	,0483411	,074	-,008152	,282723
	EDTA	,1454286	,0483411	,050	-,000009	,290866
	EDTA-LOMB.	,1322857	,0483411	,092	-,013152	,277723
	FERTILIZANTE	,2755714*	,0483411	,000	,130134	,421009
EDTA-LOMB.	CONTROL	-,1195714	,0483411	,159	-,265009	,025866
	TESTIGO	,0050000	,0483411	1,000	-,140438	,150438
	EDTA	,0131429	,0483411	1,000	-,132295	,158581
	LOMBRICOMPOST	-,1322857	,0483411	,092	-,277723	,013152
	FERTILIZANTE	,1432857	,0483411	,055	-,002152	,288723
FERTILIZANTE	CONTROL	-,2628571*	,0483411	,000	-,408295	-,117419
	TESTIGO	-,1382857	,0483411	,070	-,283723	,007152
	EDTA	-,1301429	,0483411	,102	-,275581	,015295
	LOMBRICOMPOST	-,2755714*	,0483411	,000	-,421009	-,130134
	EDTA-LOMB.	-,1432857	,0483411	,055	-,288723	,002152

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 13. Prueba específica de Tukey para el peso seco de raíz (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FERTILIZANTE	7	,259000	
EDTA	7	,389143	,389143
TESTIGO	7	,397286	,397286
EDTA-LOMB.	7	,402286	,402286
CONTROL	7		,521857
LOMBRICOMPOST	7		,534571
Sig.		,055	,050

García (2006) muestra que el peso seco de la raíz de *Zea mayz* con el tratamiento con plomo y EDTA es mayor frente a los tratamientos con plomo o EDTA, esto sugiere que a pesar de que el plomo afecta directamente a las raíces en las zonas de crecimiento activo pero que dicho metal no se manifiesta en la acumulación de peso seco, concordando con Rondón (2015) que nos dice que el peso seco de la raíz de *Schinus molle* no se ve afectado por las concentraciones de plomo ni de materia orgánica.

3.1.4 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en longitud de tallo.

Se observa en la figura 8, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el control, testigo, EDTA y lombricompost presentan las mayores longitudes de tallo a diferencia del fertilizante que presenta la menor longitud de todos los tratamientos.

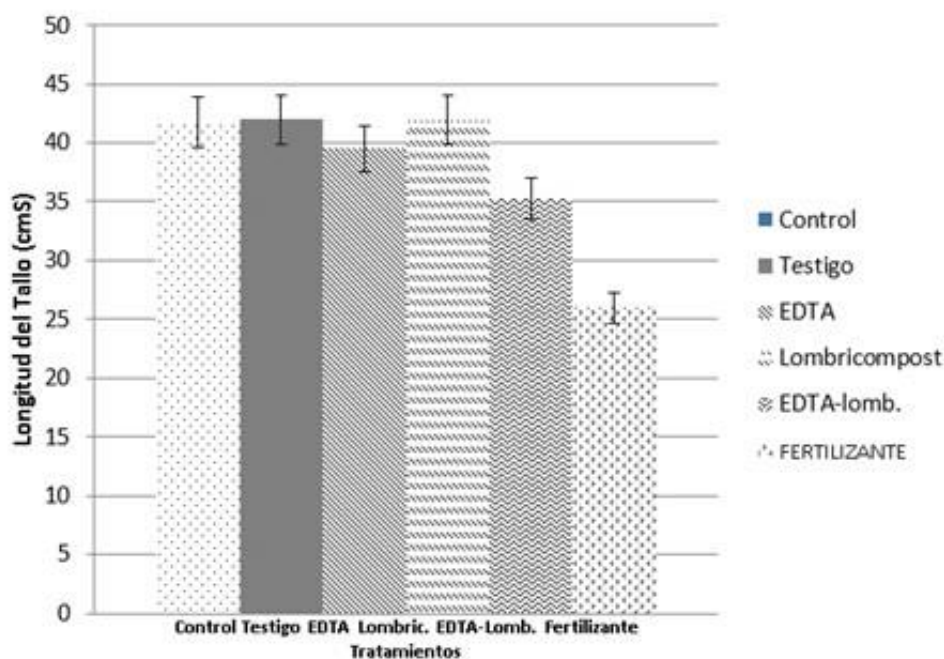


Figura N° 8: Longitud del tallo (cm) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 14. Análisis de varianza de un factor de la longitud de tallo (cm) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1915,409	5	383,082	53,173	,000
Intra-grupos	360,225	50	7,204		
Total	2275,634	55			

Tabla N° 15. Comparaciones múltiples de la longitud de tallo en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-,22500	1,34206	1,000	-4,2016	3,7516
	EDTA	2,26000	1,27319	,491	-1,5125	6,0325
	LOMBRICOMPOST	-,17000	1,27319	1,000	-3,9425	3,6025
	EDTA-LOMB.	6,46000*	1,27319	,000	2,6875	10,2325
	FERTILIZANTE	15,77000*	1,27319	,000	11,9975	19,5425

TESTIGO	CONTROL	,22500	1,34206	1,000	-3,7516	4,2016
	EDTA	2,48500	1,27319	,384	-1,2875	6,2575
	LOMBRICOMPOST	,05500	1,27319	1,000	-3,7175	3,8275
	EDTA-LOMB.	6,68500*	1,27319	,000	2,9125	10,4575
	FERTILIZANTE	15,99500*	1,27319	,000	12,2225	19,7675
EDTA	CONTROL	-2,26000	1,27319	,491	-6,0325	1,5125
	TESTIGO	-2,48500	1,27319	,384	-6,2575	1,2875
	LOMBRICOMPOST	-2,43000	1,20037	,344	-5,9868	1,1268
	EDTA-LOMB.	4,20000*	1,20037	,012	,6432	7,7568
	FERTILIZANTE	13,51000*	1,20037	,000	9,9532	17,0668
LOMBRICOMPOST	CONTROL	,17000	1,27319	1,000	-3,6025	3,9425
	TESTIGO	-,05500	1,27319	1,000	-3,8275	3,7175
	EDTA	2,43000	1,20037	,344	-1,1268	5,9868
	EDTA-LOMB.	6,63000*	1,20037	,000	3,0732	10,1868
	FERTILIZANTE	15,94000*	1,20037	,000	12,3832	19,4968
EDTA-LOMB.	CONTROL	-6,46000*	1,27319	,000	-10,2325	-2,6875
	TESTIGO	-6,68500*	1,27319	,000	-10,4575	-2,9125
	EDTA	-4,20000*	1,20037	,012	-7,7568	-,6432
	LOMBRICOMPOST	-6,63000*	1,20037	,000	-10,1868	-3,0732
	FERTILIZANTE	9,31000*	1,20037	,000	5,7532	12,8668
FERTILIZANTE	CONTROL	-15,77000*	1,27319	,000	-19,5425	-11,9975
	TESTIGO	-15,99500*	1,27319	,000	-19,7675	-12,2225
	EDTA	-13,51000*	1,20037	,000	-17,0668	-9,9532
	LOMBRICOMPOST	-15,94000*	1,20037	,000	-19,4968	-12,3832
	EDTA-LOMB.	-9,31000*	1,20037	,000	-12,8668	-5,7532

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 16. Prueba específica de Tukey para la longitud de tallo (cm) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
FERTILIZANTE	10	25,9800		
EDTA-LOMB.	10		35,2900	
EDTA	10			39,4900
CONTROL	8			41,7500
LOMBRICOMPOST	10			41,9200
TESTIGO	8			41,9750
Sig.		1,000	1,000	,363

A diferencia de nuestros resultados que muestran que la cantidad de peso seco en tallo de *Schinus molle* disminuye según el tratamiento usado, siendo el fertilizante el que obtuvo menor peso de todos, concordando así con el peso fresco del mismo.

Pero el que tuvo mayor desarrollo y crecimiento fue el tratamiento con lombricompost, que fue posiblemente debido a que la formación de compuestos órgano- minerales, favorece una nutrición más equilibrada de la planta, ya que podría observar compuestos orgánicos más elaborados, lo que facilitaría la biosíntesis de estructuras a nivel celular, (Sierra y Rojas, 2012).

3.1.5 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de tallo.

Se observa en la figura 9, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos, siendo el control que presenta los mayores pesos frescos de tallo a diferencia del fertilizante que presenta el menor peso fresco de todos los tratamientos. Lo que señala que la exposición a cada uno de los compuestos juega un papel importante y singular en el desarrollo del peso fresco del tallo.

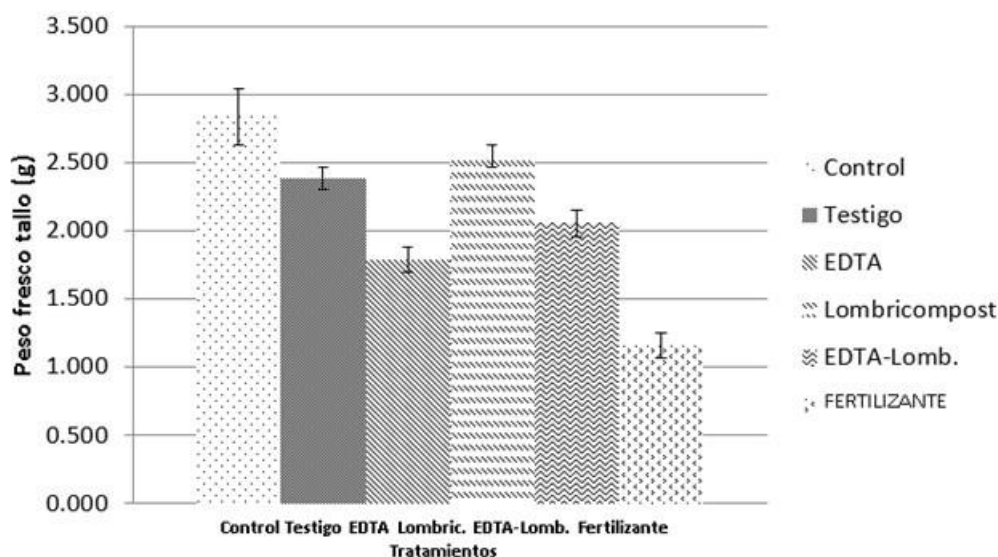


Figura N° 9: Peso fresco del tallo (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 17. Análisis de varianza de un factor del peso fresco de tallo (g) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	14,990	5	2,998	38,784	,000
Intra-grupos	2,783	36	,077		
Total	17,773	41			

Tabla N° 18. Comparaciones múltiples del peso fresco de tallo en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	,5857143*	,1486142	,004	,138597	1,032831
	EDTA	1,1857143*	,1486142	,000	,738597	1,632831
	LOMBRICOMPOST	,3142857	,1486142	,303	-,132831	,761403
	EDTA-LOMB.	,9142857*	,1486142	,000	,467169	1,361403
	FERTILIZANTE	1,8285714*	,1486142	,000	1,381455	2,275688

TESTIGO	CONTROL	-,5857143*	,1486142	,004	-1,032831	-,138597
	EDTA	,6000000*	,1486142	,003	,152883	1,047117
	LOMBRICOMPOST	-,2714286	,1486142	,462	-,718545	,175688
	EDTA-LOMB.	,3285714	,1486142	,258	-,118545	,775688
	FERTILIZANTE	1,2428571*	,1486142	,000	,795740	1,689974
EDTA	CONTROL	-1,1857143*	,1486142	,000	-1,632831	-,738597
	TESTIGO	-,6000000*	,1486142	,003	-1,047117	-,152883
	LOMBRICOMPOST	-,8714286*	,1486142	,000	-1,318545	-,424312
	EDTA-LOMB.	-,2714286	,1486142	,462	-,718545	,175688
	FERTILIZANTE	,6428571*	,1486142	,002	,195740	1,089974
LOMBRICOMPOST	CONTROL	-,3142857	,1486142	,303	-,761403	,132831
	TESTIGO	,2714286	,1486142	,462	-,175688	,718545
	EDTA	,8714286*	,1486142	,000	,424312	1,318545
	EDTA-LOMB.	,6000000*	,1486142	,003	,152883	1,047117
	FERTILIZANTE	1,5142857*	,1486142	,000	1,067169	1,961403
EDTA-LOMB.	CONTROL	-,9142857*	,1486142	,000	-1,361403	-,467169
	TESTIGO	-,3285714	,1486142	,258	-,775688	,118545
	EDTA	,2714286	,1486142	,462	-,175688	,718545
	LOMBRICOMPOST	-,6000000*	,1486142	,003	-1,047117	-,152883
	FERTILIZANTE	,9142857*	,1486142	,000	,467169	1,361403
FERTILIZANTE	CONTROL	-1,8285714*	,1486142	,000	-2,275688	-1,381455
	TESTIGO	-1,2428571*	,1486142	,000	-1,689974	-,795740
	EDTA	-,6428571*	,1486142	,002	-1,089974	-,195740
	LOMBRICOMPOST	-1,5142857*	,1486142	,000	-1,961403	-1,067169
	EDTA-LOMB.	-,9142857*	,1486142	,000	-1,361403	-,467169

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 19. Prueba específica de Tukey para el peso fresco de tallo (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
FERTILIZANTE	7	1,142857				
EDTA	7		1,785714			
EDTA-LOMB.	7		2,057143	2,057143		
TESTIGO	7			2,385714	2,385714	
LOMBRICOMPOST	7				2,657143	2,657143
CONTROL	7					2,971429
Sig.		1,000	,462	,258	,462	,303

3.1.6 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de tallo.

Se observa en la figura 10, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el control presenta el mayor peso seco de tallo, mientras que el tratamiento con fertilizante presenta el menor peso seco.

El tratamiento con EDTA y EDTA-Lombricompost no presentan diferencias entre sí, pero si, con todos los demás tratamientos.

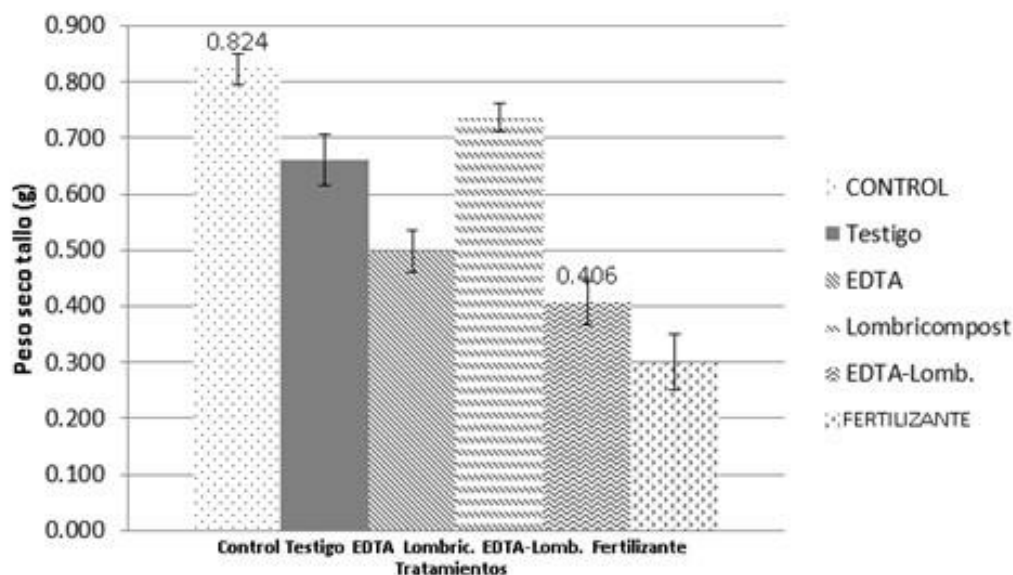


Figura N° 10: Peso seco del tallo (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 20. Análisis de varianza de un factor del peso seco de tallo (g) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,550	5	,310	36,877	,000
Intra-grupos	,303	36	,008		
Total	1,852	41			

Tabla N° 21. Comparaciones múltiples de peso seco de tallo en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	,1658571*	,0490010	,020	,018434	,313280
	EDTA	,3354286*	,0490010	,000	,188005	,482852
	LOMBRICOMPOST	,0580000	,0490010	,842	-,089423	,205423
	EDTA-LOMB.	,4228571*	,0490010	,000	,275434	,570280
	FERTILIZANTE	,5288571*	,0490010	,000	,381434	,676280
TESTIGO	CONTROL	-,1658571*	,0490010	,020	-,313280	-,018434
	EDTA	,1695714*	,0490010	,016	,022148	,316995
	LOMBRICOMPOST	-,1078571	,0490010	,262	-,255280	,039566
	EDTA-LOMB.	,2570000*	,0490010	,000	,109577	,404423
	FERTILIZANTE	,3630000*	,0490010	,000	,215577	,510423
EDTA	CONTROL	-,3354286*	,0490010	,000	-,482852	-,188005
	TESTIGO	-,1695714*	,0490010	,016	-,316995	-,022148
	LOMBRICOMPOST	-,2774286*	,0490010	,000	-,424852	-,130005
	EDTA-LOMB.	,0874286	,0490010	,488	-,059995	,234852
	FERTILIZANTE	,1934286*	,0490010	,004	,046005	,340852
LOMBRICOMPOST	CONTROL	-,0580000	,0490010	,842	-,205423	,089423
	TESTIGO	,1078571	,0490010	,262	-,039566	,255280
	EDTA	,2774286*	,0490010	,000	,130005	,424852
	EDTA-LOMB.	,3648571*	,0490010	,000	,217434	,512280
	FERTILIZANTE	,4708571*	,0490010	,000	,323434	,618280

EDTA-LOMB.	CONTROL	-,4228571*	,0490010	,000	-,570280	-,275434
	TESTIGO	-,2570000*	,0490010	,000	-,404423	-,109577
	EDTA	-,0874286	,0490010	,488	-,234852	,059995
	LOMBRICOMPOST	-,3648571*	,0490010	,000	-,512280	-,217434
	FERTILIZANTE	,1060000	,0490010	,280	-,041423	,253423
FERTILIZANTE	CONTROL	-,5288571*	,0490010	,000	-,676280	-,381434
	TESTIGO	-,3630000*	,0490010	,000	-,510423	-,215577
	EDTA	-,1934286*	,0490010	,004	-,340852	-,046005
	LOMBRICOMPOST	-,4708571*	,0490010	,000	-,618280	-,323434
	EDTA-LOMB.	-,1060000	,0490010	,280	-,253423	,041423

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 22. Prueba específica de Tukey para peso seco de tallo (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
FERTILIZANTE	7	,300429			
EDTA-LOMB.	7	,406429	,406429		
EDTA	7		,493857		
TESTIGO	7			,663429	
LOMBRICOMPOST	7			,771286	,771286
CONTROL	7				,829286
Sig.		,280	,488	,262	,842

García (2006) observó que el peso fresco y seco de la parte área de *Zea mays* no se ve afectado por el tratamiento con plomo o EDTA e interacción entre ambos.

Mani (2013) muestra que el peso seco de los brotes y raíz de la *Brassica juncea* expuestos a 50 mg/Kg de plomo y lombricompost aumento con respecto a su control. Por otra parte, Chhotu y Madhusudan (2008) Encontraron que la Biomasa del Girasol aumentaba con 20ppm y disminuía con 40 ppm de plomo y vermicompost de manera poco significativa.

Concordando con nuestra investigación en que el tratamiento con plomo y lombricompost no presentan diferencias significativas del peso seco, a diferencia del nitromax que presento esta baja, en concordancia con la longitud y biomasa de la raíz por la concentración de plomo que este acumulo. Y también los tratamientos que contenían EDTA en comparación con el control, tuvieron longitud y peso bajo tal vez porque las concentraciones de EDTA fueron toxicas para las plantas en crecimiento.

3.1.7 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso fresco de las hojas.

Se observa en la figura 11, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el tratamiento con mayor peso fresco de hojas fue el lombricompost y el menor con el fertilizante, existiendo diferencia entre todos los tratamientos, a excepción del testigo y control que no presentan diferencias entre sí.

Mostrando que el lombricompost es beneficioso para el desarrollo foliar de *Schinus molle*.

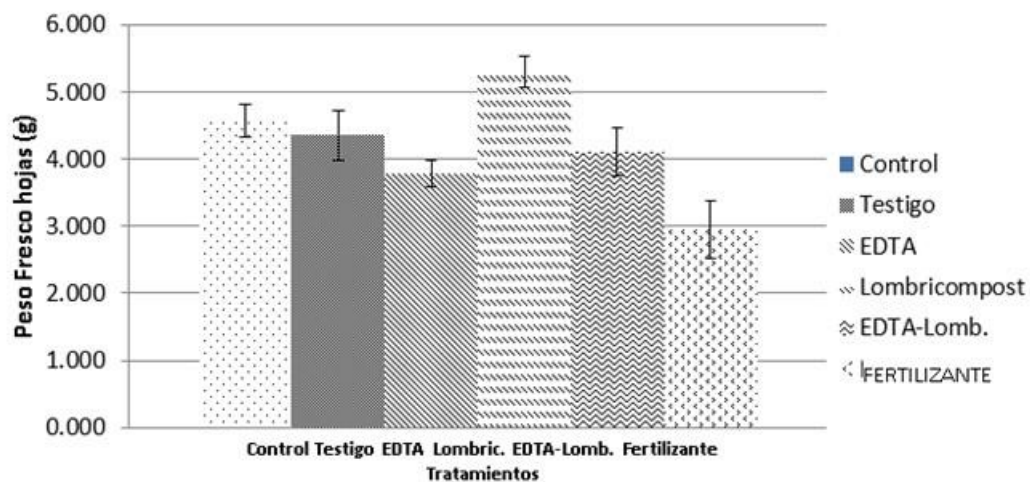


Figura N° 111: Peso fresco de las hojas (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 23. Análisis de varianza de un factor del peso fresco de hojas en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27,553	5	5,511	10,952	,000
Intra-grupos	18,114	36	,503		
Total	45,667	41			

Tabla N° 24. Comparaciones múltiples del peso fresco de hojas en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	,4181429	,3791625	,877	-,722596	1,558882
	EDTA	1,2091429*	,3791625	,032	,068404	2,349882
	LOMBRICOMPOST	-,6621429	,3791625	,512	-1,802882	,478596
	EDTA-LOMB.	,8670000	,3791625	,226	-,273739	2,007739
	FERTILIZANTE	1,8281429*	,3791625	,000	,687404	2,968882

TESTIGO	CONTROL	-,4181429	,3791625	,877	-1,558882	,722596
	EDTA	,7910000	,3791625	,317	-,349739	1,931739
	LOMBRICOMPOST	-1,0802857	,3791625	,072	-2,221024	,060453
	EDTA-LOMB.	,4488571	,3791625	,842	-,691882	1,589596
	FERTILIZANTE	1,4100000*	,3791625	,008	,269261	2,550739
EDTA	CONTROL	-1,2091429*	,3791625	,032	-2,349882	-,068404
	TESTIGO	-,7910000	,3791625	,317	-1,931739	,349739
	LOMBRICOMPOST	-1,8712857*	,3791625	,000	-3,012024	-,730547
	EDTA-LOMB.	-,3421429	,3791625	,943	-1,482882	,798596
	FERTILIZANTE	,6190000	,3791625	,583	-,521739	1,759739
LOMBRICOMPOST	CONTROL	,6621429	,3791625	,512	-,478596	1,802882
	TESTIGO	1,0802857	,3791625	,072	-,060453	2,221024
	EDTA	1,8712857*	,3791625	,000	,730547	3,012024
	EDTA-LOMB.	1,5291429*	,3791625	,003	,388404	2,669882
	FERTILIZANTE	2,4902857*	,3791625	,000	1,349547	3,631024
EDTA-LOMB.	CONTROL	-,8670000	,3791625	,226	-2,007739	,273739
	TESTIGO	-,4488571	,3791625	,842	-1,589596	,691882
	EDTA	,3421429	,3791625	,943	-,798596	1,482882
	LOMBRICOMPOST	-1,5291429*	,3791625	,003	-2,669882	-,388404
	FERTILIZANTE	,9611429	,3791625	,141	-,179596	2,101882
FERTILIZANTE	CONTROL	-1,8281429*	,3791625	,000	-2,968882	-,687404
	TESTIGO	-1,4100000*	,3791625	,008	-2,550739	-,269261
	EDTA	-,6190000	,3791625	,583	-1,759739	,521739
	LOMBRICOMPOST	-2,4902857*	,3791625	,000	-3,631024	-1,349547
	EDTA-LOMB.	-,9611429	,3791625	,141	-2,101882	,179596

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 25. Prueba específica de Tukey para el peso fresco de hojas (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
FERTILIZANTE	7	2,946429			
EDTA	7	3,565429	3,565429		
EDTA-LOMB.	7	3,907571	3,907571	3,907571	
TESTIGO	7		4,356429	4,356429	4,356429
CONTROL	7			4,774571	4,774571
LOMBRICOMPOST	7				5,436714
Sig.		,141	,317	,226	,072

3.1.8 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en peso seco de las hojas.

Se observa en la figura 12, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el tratamiento con lombricompost presentó mayor peso seco de hojas y el fertilizante el menor. Existiendo diferencia entre todos los tratamientos, a excepción del testigo y control que no presentan diferencias entre sí. Mostrando coherencia con los resultados del peso fresco foliar permitiendo ver que el lombricompost es realmente beneficioso para el desarrollo foliar de *Schinus molle*.

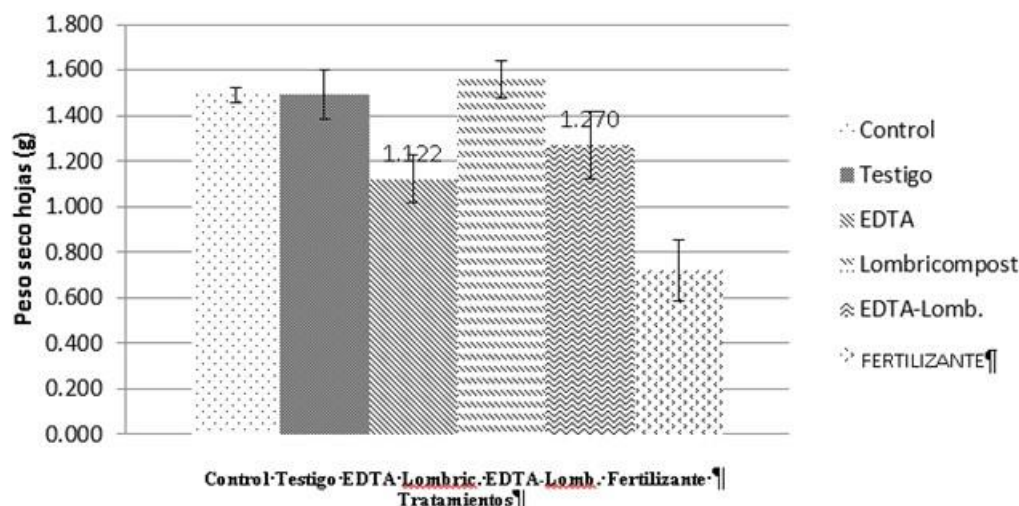


Figura N° 12: Peso seco de las hojas (g) de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 26. Análisis de varianza de un factor en peso seco de hojas (g) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,048	5	,810	18,212	,000
Intra-grupos	1,600	36	,044		
Total	5,648	41			

Tabla N° 27. Comparaciones múltiples en peso seco de hojas en plantas de *Schinus molle* FERTILIZANTE

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
	Control Testigo EDTA Lombric. EDTA-Lomb. Fertilizante				Límite inferior	Límite superior
CONTROL	Control					
	LOMBRICOMPOST	-,1616440	,1126954	,706	-,500697	,177409
	EDTA-LOMB.	,3428864*	,1126954	,046	,003834	,681939
	FERTILIZANTE	,7577823*	,1126954	,000	,418730	1,096835
	EDTA	-,0064539	,1126954	1,000	-,345507	,332599
TESTIGO	Control					
	EDTA	,3991154*	,1126954	,013	,060063	,738168
	LOMBRICOMPOST	-,1680979	,1126954	,672	-,507151	,170955
	EDTA-LOMB.	,3364326	,1126954	,053	-,002620	,675485
	FERTILIZANTE	,7513284*	,1126954	,000	,412276	1,090381
EDTA	Control					
	TESTIGO	-,4055693*	,1126954	,011	-,744622	-,066517
	LOMBRICOMPOST	-,5672133*	,1126954	,000	-,906266	-,228161
	EDTA-LOMB.	-,0626829	,1126954	,993	-,401736	,276370
	FERTILIZANTE	,3522130*	,1126954	,038	,013160	,691266
LOMBRICOMPOST	Control					
	TESTIGO	,1616440	,1126954	,706	-,177409	,500697
	EDTA	,5672133*	,1126954	,000	,228161	,906266
	EDTA-LOMB.	,5045304*	,1126954	,001	,165478	,843583
	FERTILIZANTE	,9194263*	,1126954	,000	,580374	1,258479
EDTA-LOMB.	Control					
	TESTIGO	-,3428864*	,1126954	,046	-,681939	-,003834
	EDTA	-,0626829	,1126954	,993	-,276370	,401736
	LOMBRICOMPOST	-,5045304*	,1126954	,001	-,843583	-,165478
	FERTILIZANTE	,4148959*	,1126954	,009	,075843	,753949

FERTILIZANTE	CONTROL	-,7577823*	,1126954	,000	-1,096835	-,418730
	TESTIGO	-,7513284*	,1126954	,000	-1,090381	-,412276
	EDTA	-,3522130*	,1126954	,038	-,691266	-,013160
	LOMBRICOMPOST	-,9194263*	,1126954	,000	-1,258479	-,580374
	EDTA-LOMB.	-,4148959*	,1126954	,009	-,753949	-,075843

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 28. Prueba específica de Tukey en peso seco de hojas (g) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
FERTILIZANTE	7	,724327			
EDTA	7		1,076540		
EDTA-LOMB.	7		1,139223	1,139223	
TESTIGO	7			1,475656	1,475656
CONTROL	7				1,482109
LOMBRICOMPOST	7				1,643753
Sig.		1,000	,993	,053	,672

3.1.9 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la relación vástago/raíz.

En la figura 14, si bien no se aplicó un análisis de varianza, se observa una diferencia matemática en la relación vástago/raíz, reforzando los análisis obtenidos con los datos anteriores en cuanto al peso fresco y seco de raíz, tallo y hoja, los que indicaron que los mayores valores los obtuvo el control y lombricompost y los menores el fertilizante con respecto al control. Observando que el mayor valor en esta relación lo presenta el testigo y el menor el fertilizante, lo cual nos dice que este tiene un mayor desarrollo radicular, que se refleja en una mayor capacidad de fitoextracción.



Figura N° 13: Comparación de las medidas de crecimiento entre plantas de *Schinus molle* con diferentes tratamientos. De izquierda a derecha tratamiento con Fertilizante, EDTA-Lombricompost, EDTA, lombricompost, control y testigo.

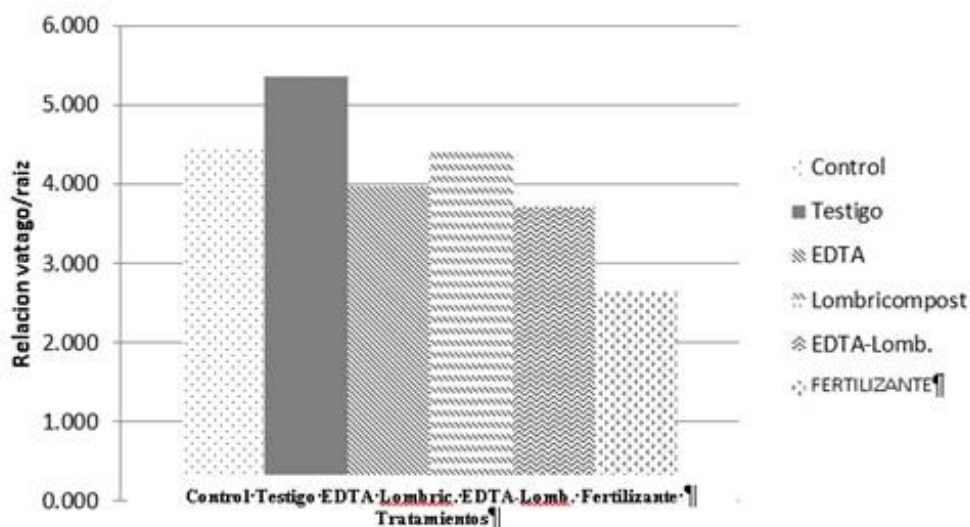


Figura N° 14: Relación vástago/raíz en plantas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

La reducción del crecimiento de la planta es debido a la disminución en la absorción de nutrientes y el estrés oxidativo, causado por el plomo (Eun et al., 2000). Existiendo unos pocos casos de aumento de la biomasa de la planta debido a los contaminantes de metales que han sido reportados en la literatura, pero estos eran de experimentos utilizando bajas concentraciones de metales (Breckle, 1991).

3.2 Respuesta fisiológica

3.2.1 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la síntesis de malondialdehído (MDA) en hojas de plantas de *Schinus molle*.

Se observa en la figura 15, el efecto de los tratamientos sobre la peroxidación lipídica en hojas de *Schinus molle* que fue medido como malondialdehído, que el análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el menor valor lo presenta el control y el mayor el EDTA-Lombricompost, no existiendo diferencias entre testigo y fertilizante, EDTA y lombricompost.

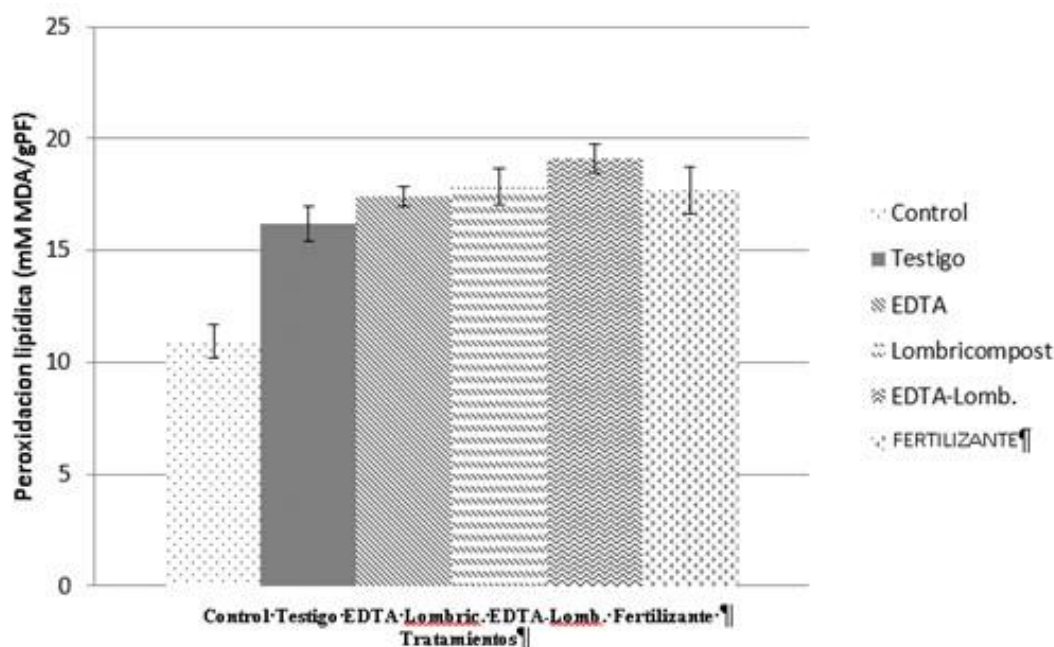


Figura N° 155: Peroxidación lipídica (mm MDA/g P.F.) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 29. Análisis de varianza de un factor para peroxidación lipídica en hojas (μmol pirogalo/min/g proteína) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	175,938	5	35,188	18,467	,000
Intra-grupos	45,730	24	1,905		
Total	221,668	29			

Tabla N° 30. Comparaciones múltiples para peroxidación lipídica en hojas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-4,7793984220*	,8730242301	,000	-7,478729249	-2,080067595
	EDTA	-5,9822335020*	,8730242301	,000	-8,681564329	-3,282902675
	LOMBRICOMPOST	-6,2521773020*	,8730242301	,000	-8,951508129	-3,552846475
	EDTA-LOMB.	-7,7585871820*	,8730242301	,000	-10,457918009	-5,059256355
	FERTILIZANTE	-5,0439898020*	,8730242301	,000	-7,743320629	-2,344658975
TESTIGO	CONTROL	4,7793984220*	,8730242301	,000	2,080067595	7,478729249
	EDTA	-1,2028350800	,8730242301	,739	-3,902165907	1,496495747
	LOMBRICOMPOST	-1,4727788800	,8730242301	,553	-4,172109707	1,226551947
	EDTA-LOMB.	-2,9791887600*	,8730242301	,025	-5,678519587	-,279857933
	FERTILIZANTE	-,2645913800	,8730242301	1,000	-2,963922207	2,434739447
EDTA	CONTROL	5,9822335020*	,8730242301	,000	3,282902675	8,681564329
	TESTIGO	1,2028350800	,8730242301	,739	-1,496495747	3,902165907
	LOMBRICOMPOST	-,2699438000	,8730242301	1,000	-2,969274627	2,429387027
	EDTA-LOMB.	-1,7763536800	,8730242301	,353	-4,475684507	,922977147
	FERTILIZANTE	,9382437000	,8730242301	,887	-1,761087127	3,637574527
LOMBRICOMPOST	CONTROL	6,2521773020*	,8730242301	,000	3,552846475	8,951508129
	TESTIGO	1,4727788800	,8730242301	,553	-1,226551947	4,172109707
	EDTA	,2699438000	,8730242301	1,000	-2,429387027	2,969274627
	EDTA-LOMB.	-1,5064098800	,8730242301	,529	-4,205740707	1,192920947
	FERTILIZANTE	1,2081875000	,8730242301	,736	-1,491143327	3,907518327
EDTA-LOMB.	CONTROL	7,7585871820*	,8730242301	,000	5,059256355	10,457918009
	TESTIGO	2,9791887600*	,8730242301	,025	,279857933	5,678519587
	EDTA	1,7763536800	,8730242301	,353	-,922977147	4,475684507
	LOMBRICOMPOST	1,5064098800	,8730242301	,529	-1,192920947	4,205740707
	FERTILIZANTE	2,7145973800*	,8730242301	,048	,015266553	5,413928207
FERTILIZANTE	CONTROL	5,0439898020*	,8730242301	,000	2,344658975	7,743320629
	TESTIGO	,2645913800	,8730242301	1,000	-2,434739447	2,963922207
	EDTA	-,9382437000	,8730242301	,887	-3,637574527	1,761087127
	LOMBRICOMPOST	-1,2081875000	,8730242301	,736	-3,907518327	1,491143327
	EDTA-LOMB.	-2,7145973800*	,8730242301	,048	-5,413928207	-,015266553

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 31. Prueba específica de Tukey para peroxidación lipídica en hojas (μmol pirogalo/min/g proteína) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL	5	11,422855478		
TESTIGO	5		16,202253900	
FERTILIZANTE	5		16,466845280	
EDTA	5		17,405088980	17,405088980
LOMBRICOMPOST	5		17,675032780	17,675032780
EDTA-LOMB.	5			19,181442660
Sig.		1,000	,553	,353

Frente al daño oxidativo, las enzimas antioxidantes y ciertos metabolitos incluyendo el contenido de malondialdehído presente en las plantas juegan un rol importante que conduce a la adaptación y finalmente a la supervivencia de las plantas bajo condiciones de stress (Zhang et al. 2007).

3.2.2 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila “a”, “b”, y carotenos) en hojas de plantas de *Schinus molle*.

Se observa en la figura 16, la influencia de los tratamientos sobre el contenido de clorofila “a” en hojas de *Schinus molle*, mostrando un análisis de varianza con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que no hay diferencia entre los grupos de control, EDTA y lombricompost pero si con el grupo de EDTA-Lombricompost, fertilizante y testigo. Presentando el primer grupo una menor concentración de clorofila y el segundo una mayor concentración.

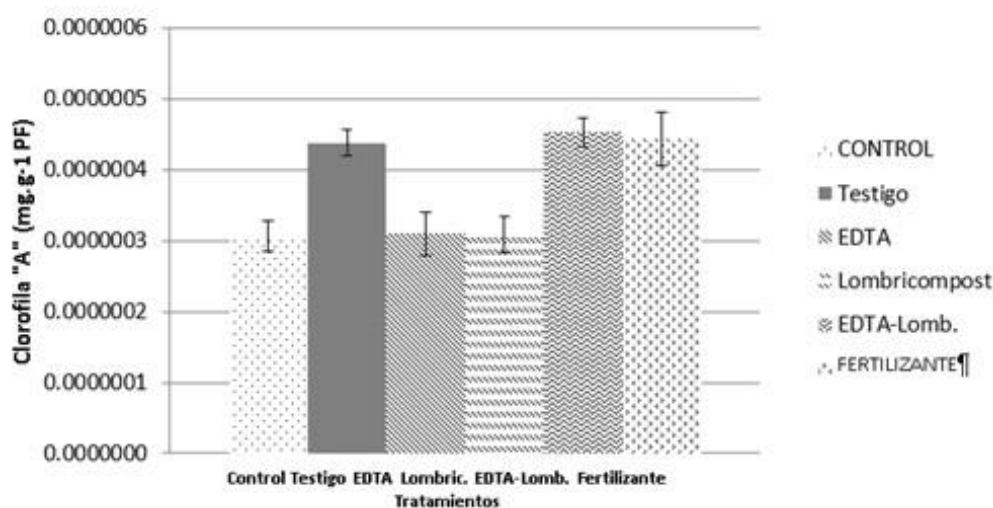


Figura N° 16: Concentración de clorofila “a” (mg/g P.F.) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 32. Análisis de Varianza de un factor para clorofila “a” en hojas (mg.g⁻¹ PF) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,000	5	,000	10,193	,000
Intra-grupos	,000	24	,000		
Total	,000	29			

Tabla N° 33. Comparaciones múltiples para clorofila “a” en hojas en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-1,552E-7*	3,08E-8	,000	-2,50E-7	-6,0E-8
	EDTA	-3,97E-8	3,08E-8	,787	-1,35E-7	5,5E-8
	LOMBRICOMPOST	-4,51E-8	3,08E-8	,689	-1,40E-7	5,0E-8
	EDTA-LOMB.	-1,462E-7*	3,08E-8	,001	-2,41E-7	-5,1E-8
	FERTILIZANTE	-1,537E-7*	3,08E-8	,001	-2,49E-7	-5,9E-8
TESTIGO	CONTROL	1,552E-7*	3,08E-8	,000	6,0E-8	2,50E-7
	EDTA	1,155E-7*	3,08E-8	,011	2,0E-8	2,11E-7
	LOMBRICOMPOST	1,101E-7*	3,08E-8	,017	1,5E-8	2,05E-7
	EDTA-LOMB.	9,0E-9	3,08E-8	1,000	-8,6E-8	1,04E-7
	FERTILIZANTE	1,5E-9	3,08E-8	1,000	-9,4E-8	9,7E-8
EDTA	CONTROL	3,97E-8	3,08E-8	,787	-5,5E-8	1,35E-7
	TESTIGO	-1,155E-7*	3,08E-8	,011	-2,11E-7	-2,0E-8
	LOMBRICOMPOST	-5,4E-9	3,08E-8	1,000	-1,00E-7	9,0E-8
	EDTA-LOMB.	-1,065E-7*	3,08E-8	,022	-2,02E-7	-1,1E-8
	FERTILIZANTE	-1,140E-7*	3,08E-8	,012	-2,09E-7	-1,9E-8
LOMBRICOMPOST	CONTROL	4,51E-8	3,08E-8	,689	-5,0E-8	1,40E-7
	TESTIGO	-1,101E-7*	3,08E-8	,017	-2,05E-7	-1,5E-8
	EDTA	5,4E-9	3,08E-8	1,000	-9,0E-8	1,00E-7
	EDTA-LOMB.	-1,011E-7*	3,08E-8	,033	-1,96E-7	-6E-9
	FERTILIZANTE	-1,087E-7*	3,08E-8	,019	-2,04E-7	-1,4E-8
EDTA-LOMB.	CONTROL	1,462E-7*	3,08E-8	,001	5,1E-8	2,41E-7
	TESTIGO	-9,0E-9	3,08E-8	1,000	-1,04E-7	8,6E-8
	EDTA	1,065E-7*	3,08E-8	,022	1,1E-8	2,02E-7
	LOMBRICOMPOST	1,011E-7*	3,08E-8	,033	6E-9	1,96E-7
	FERTILIZANTE	-7,6E-9	3,08E-8	1,000	-1,03E-7	8,8E-8
FERTILIZANTE	CONTROL	1,537E-7*	3,08E-8	,001	5,9E-8	2,49E-7
	TESTIGO	-1,5E-9	3,08E-8	1,000	-9,7E-8	9,4E-8
	EDTA	1,140E-7*	3,08E-8	,012	1,9E-8	2,09E-7
	LOMBRICOMPOST	1,087E-7*	3,08E-8	,019	1,4E-8	2,04E-7
	EDTA-LOMB.	7,6E-9	3,08E-8	1,000	-8,8E-8	1,03E-7

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 34. Prueba específica de Tukey para clorofila “a” (mg/g P.F.) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	5	2,71E-7	
EDTA	5	3,10E-7	
LOMBRICOMPOST	5	3,16E-7	
EDTA-LOMB.	5		4,17E-7
FERTILIZANTE	5		4,25E-7
TESTIGO	5		4,26E-7
Sig.		,689	1,000

Se observa en la figura 17, la influencia de los tratamientos sobre el contenido de clorofila “b” en hojas de *Schinus molle*, mostrando un análisis de varianza con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que no existe diferencias entre

los grupos de EDTA, lombricompost, EDTA-Lombricompost y testigo, pero si se encontró diferencias entre el control con una mayor concentración de clorofila “b” y el fertilizante con una menor concentración de clorofila “b”.

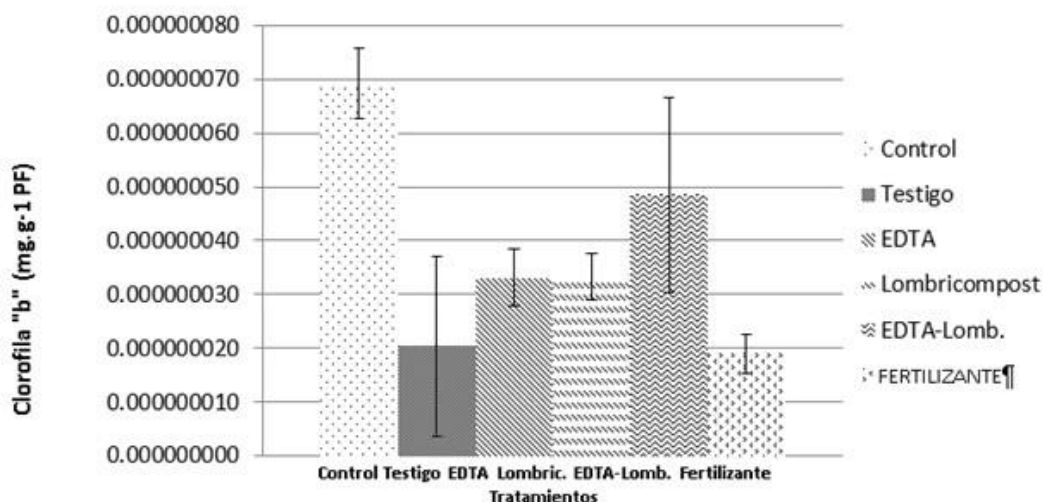


Figura N° 17: Concentración de clorofila “b” (mg/g P.F.) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 35. Análisis de varianza de un factor para clorofila “b” (mg/g P.F.) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,000	5	,000	3,627	,014
Intra-grupos	,000	24	,000		
Total	,000	29			

Tabla N° 36. Comparaciones múltiples para clorofila “b” en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	3,31E-8	1,35E-8	,180	-9E-9	7,5E-8
	EDTA	4,07E-8	1,35E-8	,060	-1E-9	8,3E-8
	LOMBRICOMPOST	3,86E-8	1,35E-8	,082	-3E-9	8,0E-8
	EDTA-LOMB.	3,29E-8	1,35E-8	,184	-9E-9	7,5E-8
	FERTILIZANTE	5,49E-8*	1,35E-8	,005	1,3E-8	9,7E-8
TESTIGO	CONTROL	-3,31E-8	1,35E-8	,180	-7,5E-8	9E-9
	EDTA	7,6E-9	1,35E-8	,993	-3,4E-8	4,9E-8
	LOMBRICOMPOST	5,5E-9	1,35E-8	,998	-3,6E-8	4,7E-8
	EDTA-LOMB.	-2E-10	1,35E-8	1,000	-4,2E-8	4,2E-8
	FERTILIZANTE	2,18E-8	1,35E-8	,598	-2,0E-8	6,4E-8
EDTA	CONTROL	-4,07E-8	1,35E-8	,060	-8,3E-8	1E-9
	TESTIGO	-7,6E-9	1,35E-8	,993	-4,9E-8	3,4E-8
	LOMBRICOMPOST	-2,1E-9	1,35E-8	1,000	-4,4E-8	4,0E-8
	EDTA-LOMB.	-7,8E-9	1,35E-8	,992	-5,0E-8	3,4E-8
	FERTILIZANTE	1,42E-8	1,35E-8	,895	-2,8E-8	5,6E-8

LOMBRICOMPOST	CONTROL	-3,86E-8	1,35E-8	,082	-8,0E-8	3E-9
	TESTIGO	-5,5E-9	1,35E-8	,998	-4,7E-8	3,6E-8
	EDTA	2,1E-9	1,35E-8	1,000	-4,0E-8	4,4E-8
	EDTA-LOMB.	-5,7E-9	1,35E-8	,998	-4,8E-8	3,6E-8
	FERTILIZANTE	1,63E-8	1,35E-8	,830	-2,6E-8	5,8E-8
EDTA-LOMB.	CONTROL	-3,29E-8	1,35E-8	,184	-7,5E-8	9E-9
	TESTIGO	2E-10	1,35E-8	1,000	-4,2E-8	4,2E-8
	EDTA	7,8E-9	1,35E-8	,992	-3,4E-8	5,0E-8
	LOMBRICOMPOST	5,7E-9	1,35E-8	,998	-3,6E-8	4,8E-8
	FERTILIZANTE	2,20E-8	1,35E-8	,590	-2,0E-8	6,4E-8
FERTILIZANTE	CONTROL	-5,49E-8*	1,35E-8	,005	-9,7E-8	-1,3E-8
	TESTIGO	-2,18E-8	1,35E-8	,598	-6,4E-8	2,0E-8
	EDTA	-1,42E-8	1,35E-8	,895	-5,6E-8	2,8E-8
	LOMBRICOMPOST	-1,63E-8	1,35E-8	,830	-5,8E-8	2,6E-8
	EDTA-LOMB.	-2,20E-8	1,35E-8	,590	-6,4E-8	2,0E-8

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 37. Prueba específica de Tukey para clorofila “b” (mg/g P.F.) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FERTILIZANTE	5	1,4E-8	
EDTA	5	2,9E-8	2,9E-8
LOMBRICOMPOST	5	3,1E-8	3,1E-8
TESTIGO	5	3,6E-8	3,6E-8
EDTA-LOMB.	5	3,6E-8	3,6E-8
CONTROL	5		6,9E-8
Sig.		,590	,060

El plomo causa retraso en el crecimiento, clorosis y decoloración purpura en las hojas, característica de deficiencia de fósforo, (Lange *et al.*, 1983). La acumulación de metales pesados provoca estrés oxidativo y la aclimatación a condiciones de estrés, mediante la inducción de genes relacionados con la respuesta al estrés oxidativo puede hacer que se altere la tasa fotosintética (Rossel *et al.*, 2007). García (2006) el plomo, a bajas concentraciones afecta los procesos fisiológicos importantes como la fotosíntesis, bien sea de forma directa o indirecta.

Las plantas expuestas solo a plomo mostraron una disminución en su tasa fotosintética en el tiempo.

Rondón (2015) nos muestra que las concentraciones de pigmentos fotosintéticos en hojas de *Schinus molle* no presentaron ninguna alteración frente a la exposición con plomo, lo que sugiere que las plantas de molle son

relativamente resistentes a la acción del plomo o que el transporte del plomo hacia los centros de síntesis de clorofila ocurre muy lentamente.

Ya que estudios llevados a cabo por Athanasiou et al, (2010) muestran que algunas plantas tienen la habilidad de aclimatar su fotosíntesis en condiciones de estrés a través de cambios estructurales o por medio de cambios subcelulares.

Se observa en la figura 18, la influencia de los tratamientos sobre el contenido de carotenos en hojas de *Schinus molle*, mostrando un análisis de varianza con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que no hay diferencia entre los grupos de control, EDTA, EDTA-Lombricompost y testigo, pero si se encontró diferencias con el fertilizante con una mayor concentración y el lombricompost con una menor concentración de carotenos.

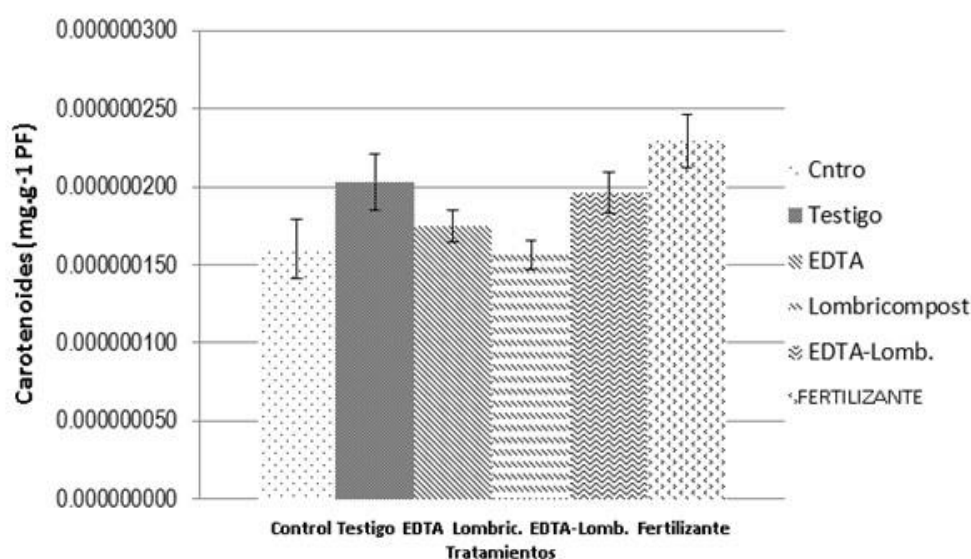


Figura N° 18: Concentración de carotenos (mg/g P.F.) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 38. Análisis de varianza de un factor para carotenos (mg/g P.F.) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,000	5	,000	5,922	,001
Intra-grupos	,000	24	,000		
Total	,000	29			

Tabla N° 39. Comparaciones múltiples para carotenos en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-4,27E-8	1,79E-8	,202	-9,8E-8	1,3E-8
	EDTA	-3,8E-9	1,79E-8	1,000	-5,9E-8	5,2E-8
	LOMBRICOMPOST	1,22E-8	1,79E-8	,983	-4,3E-8	6,8E-8
	EDTA-LOMB.	-3,60E-8	1,79E-8	,366	-9,1E-8	1,9E-8
	FERTILIZANTE	-6,84E-8*	1,79E-8	,010	-1,24E-7	-1,3E-8
TESTIGO	CONTROL	4,27E-8	1,79E-8	,202	-1,3E-8	9,8E-8
	EDTA	3,89E-8	1,79E-8	,287	-1,6E-8	9,4E-8
	LOMBRICOMPOST	5,49E-8	1,79E-8	,054	-1E-9	1,10E-7
	EDTA-LOMB.	6,7E-9	1,79E-8	,999	-4,9E-8	6,2E-8
	FERTILIZANTE	-2,57E-8	1,79E-8	,706	-8,1E-8	3,0E-8
EDTA	CONTROL	3,8E-9	1,79E-8	1,000	-5,2E-8	5,9E-8
	TESTIGO	-3,89E-8	1,79E-8	,287	-9,4E-8	1,6E-8
	LOMBRICOMPOST	1,59E-8	1,79E-8	,946	-3,9E-8	7,1E-8
	EDTA-LOMB.	-3,23E-8	1,79E-8	,484	-8,8E-8	2,3E-8
	FERTILIZANTE	-6,47E-8*	1,79E-8	,016	-1,20E-7	-9E-9
LOMBRICOMPOST	CONTROL	-1,22E-8	1,79E-8	,983	-6,8E-8	4,3E-8
	TESTIGO	-5,49E-8	1,79E-8	,054	-1,10E-7	1E-9
	EDTA	-1,59E-8	1,79E-8	,946	-7,1E-8	3,9E-8
	EDTA-LOMB.	-4,82E-8	1,79E-8	,115	-1,04E-7	7E-9
	FERTILIZANTE	-8,06E-8*	1,79E-8	,002	-1,36E-7	-2,5E-8
EDTA-LOMB.	CONTROL	3,60E-8	1,79E-8	,366	-1,9E-8	9,1E-8
	TESTIGO	-6,7E-9	1,79E-8	,999	-6,2E-8	4,9E-8
	EDTA	3,23E-8	1,79E-8	,484	-2,3E-8	8,8E-8
	LOMBRICOMPOST	4,82E-8	1,79E-8	,115	-7E-9	1,04E-7
	FERTILIZANTE	-3,24E-8	1,79E-8	,480	-8,8E-8	2,3E-8
FERTILIZANTE	CONTROL	6,84E-8*	1,79E-8	,010	1,3E-8	1,24E-7
	TESTIGO	2,57E-8	1,79E-8	,706	-3,0E-8	8,1E-8
	EDTA	6,47E-8*	1,79E-8	,016	9E-9	1,20E-7
	LOMBRICOMPOST	8,06E-8*	1,79E-8	,002	2,5E-8	1,36E-7
	EDTA-LOMB.	3,24E-8	1,79E-8	,480	-2,3E-8	8,8E-8

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 40. Prueba de Tukey para carotenos (mg/g P.F.) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
LOMBRICOMPOST	5	1,49E-7	
CONTROL	5	1,61E-7	
EDTA	5	1,64E-7	
EDTA-LOMB.	5	1,97E-7	1,97E-7
TESTIGO	5	2,03E-7	2,03E-7
FERTILIZANTE	5		2,29E-7
Sig.		,054	,480



Figura N° 19: Filtración de extracto de hojas de *Schinus molle* para la determinación de concentración de pigmentos fotosintéticos.

Una de las estrategias adoptadas por las plantas frente al estrés oxidativo es el incremento de carotenos para aliviar los efectos tóxicos de los radicales libres, generados por la toxicidad de metales pesados (Singh et al., 2006) Como se muestra en este trabajo la mayor concentración de carotenos obtenidos fue con el tratamiento con fertilizante, debido tal vez a la intoxicación producida por este y por el plomo.

Azooz et al., 2011, también se encontró un aumento de los carotenos bajo estrés con plomo en plántulas de okra (*Hibiscus esculentus*). Este incremento puede ser debido a que los carotenos tienen la función de detoxificar ROS (Rastgoo y Alemzadeh, 2011 citado por Rondón 1015).

Las plantas usan la energía fotosintética para extraer iones del suelo y concentrarlos en su biomasa, de acuerdo con los requerimientos nutricionales (Kramer y Chardonnens, 2001). Los estudios muestran cómo la exposición

de plomo o de otros metales pesados afectan el crecimiento y la actividad fotosintética en plantas (Xiong, 1997, Krishnaraj et al, 2000).

Los valores de fotosíntesis se ven afectados de manera significativa por la acumulación de plomo (Krishnaraj et al., (2000). Afecta a la síntesis de la clorofila a través de la inhibición de la deshidratasa de ácido d-aminolevulínico, que, a su vez, reduce la actividad fotosintética de las plantas a través de una reducción en el contenido de clorofila (Geebelen et al., 2002). A diferencia de Ruley et al., (2006). Quienes indican con que la exposición a plomo, ya sea solo o en combinación con quelantes, no afecta a la maquinaria fotosintética de *Sesbania* Por ello se cree que, si una planta acumula plomo y mantiene la actividad fotosintética, sobrevivirá y tolerara concentraciones tóxicas de plomo (Krishnaraj et al., 2000).

Por lo expuesto anteriormente, es que el control, lombricompost e interacción EDTA-Lombricompost no presentan un alza en la concentración de sus pigmentos fotosintéticos, ya que como indican los párrafos arriba, estos no estarían en estrés, por la presencia de minerales y nutrientes disponibles, y por la baja acumulación de plomo en su sistema. A diferencia del EDTA, Testigo y Fertilizante que se encuentran con bajo contenido de nutrientes y presencia de plomo (fertilizante).

3.2.3 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en el contenido de proteína total de hojas de plantas de *Schinus molle*.

Se observa en la figura 21, la influencia de los tratamientos sobre el contenido de proteína total en hojas de *Schinus molle*, mostrando un análisis de varianza con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el tratamiento con fertilizante presenta menor concentración de proteínas solubles totales a comparación de los demás tratamientos en lo que no existe diferencia entre ellos.

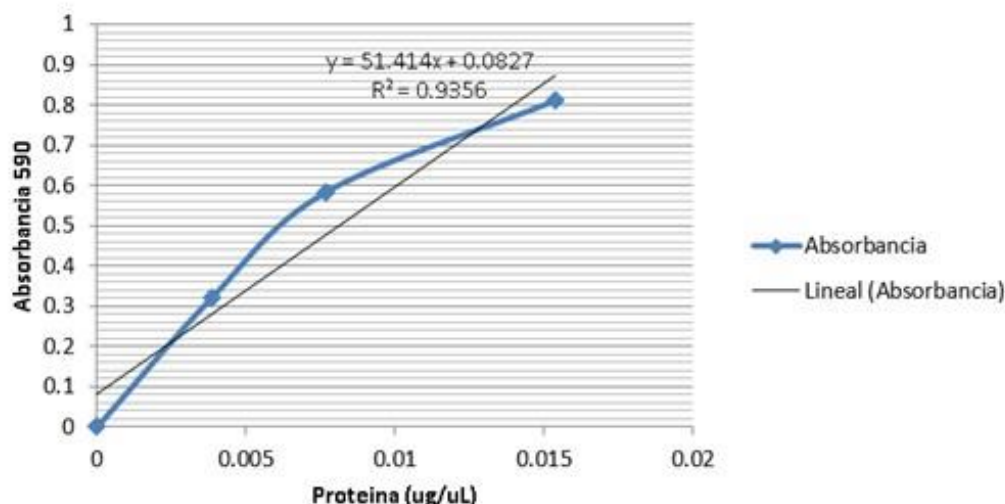


Figura N° 20: Curva de calibración obtenida por el método Bradford.

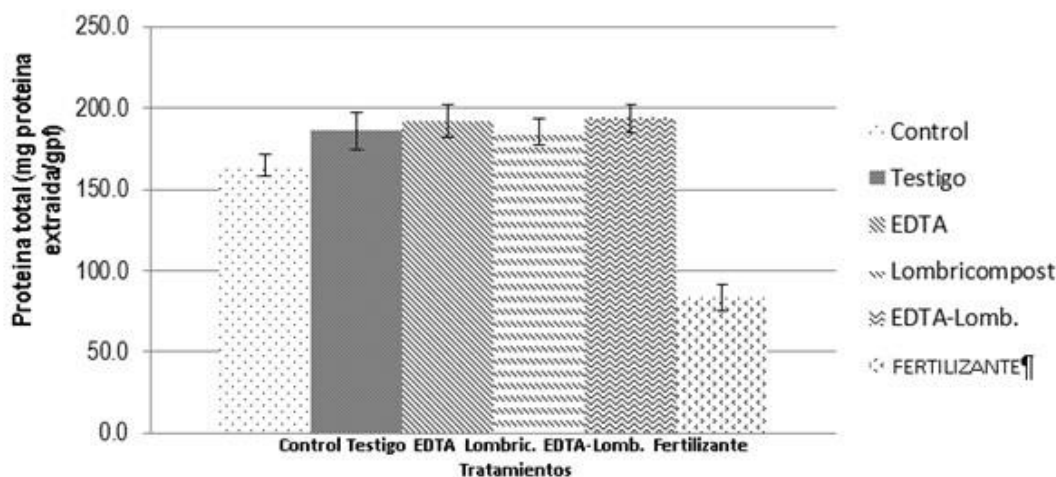


Figura N° 21: Concentración de proteína total (mg/g P.F.) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 41. Análisis de varianza de un factor para proteínas extraídas de hojas (mg/g P.S.) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	41367,942	5	8273,588	24,588	,000
Intra-grupos	8075,754	24	336,490		
Total	49443,696	29			

Tabla N° 42. Comparaciones múltiples en proteínas extraídas de hojas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	-29,1594253320	11,6015473416	,160	-65,030611151	6,711760487
	EDTA	-27,5885545100	11,6015473416	,204	-63,459740329	8,282631309
	LOMBRICOMPOST	-21,1133542360	11,6015473416	,473	-56,984540055	14,757831583
	EDTA-LOMB.	-29,1174855560	11,6015473416	,161	-64,988671375	6,753700263
	FERTILIZANTE	74,4633812260*	11,6015473416	,000	38,592195407	110,334567045

	CONTROL	29,1594253320	11,6015473416	,160	-6,711760487	65,030611151
TESTIGO	EDTA	1,5708708220	11,6015473416	1,000	-34,300314997	37,442056641
	LOMBRICOMPOST	8,0460710960	11,6015473416	,981	-27,825114723	43,917256915
	EDTA-LOMB.	,0419397760	11,6015473416	1,000	-35,829246043	35,913125595
	FERTILIZANTE	103,6228065580*	11,6015473416	,000	67,751620739	139,493992377
	CONTROL	27,5885545100	11,6015473416	,204	-8,282631309	63,459740329
EDTA	TESTIGO	-1,5708708220	11,6015473416	1,000	-37,442056641	34,300314997
	LOMBRICOMPOST	6,4752002740	11,6015473416	,993	-29,395985545	42,346386093
	EDTA-LOMB.	-1,5289310460	11,6015473416	1,000	-37,400116865	34,342254773
	FERTILIZANTE	102,0519357360*	11,6015473416	,000	66,180749917	137,923121555
	CONTROL	21,1133542360	11,6015473416	,473	-14,757831583	56,984540055
LOMBRICO MPOST	TESTIGO	-8,0460710960	11,6015473416	,981	-43,917256915	27,825114723
	EDTA	-6,4752002740	11,6015473416	,993	-42,346386093	29,395985545
	EDTA-LOMB.	-8,0041313200	11,6015473416	,981	-43,875317139	27,867054499
	FERTILIZANTE	95,5767354620*	11,6015473416	,000	59,705549643	131,447921281
	CONTROL	29,1174855560	11,6015473416	,161	-6,753700263	64,988671375
EDTA- LOMB.	TESTIGO	-,0419397760	11,6015473416	1,000	-35,913125595	35,829246043
	EDTA	1,5289310460	11,6015473416	1,000	-34,342254773	37,400116865
	LOMBRICOMPOST	8,0041313200	11,6015473416	,981	-27,867054499	43,875317139
	FERTILIZANTE	103,5808667820*	11,6015473416	,000	67,709680963	139,452052601
	CONTROL	-74,4633812260*	11,6015473416	,000	-110,334567045	-38,592195407
FERTILIZA NTE	TESTIGO	-103,6228065580*	11,6015473416	,000	-139,493992377	-67,751620739
	EDTA	-102,0519357360*	11,6015473416	,000	-137,923121555	-66,180749917
	LOMBRICOMPOST	-95,5767354620*	11,6015473416	,000	-131,447921281	-59,705549643
	EDTA-LOMB.	-103,5808667820*	11,6015473416	,000	-139,452052601	-67,709680963

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 43. Prueba específica de Tukey para proteínas extraídas de hojas (mg/g P.S.) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FERTILIZANTE	5	90,281278974	
CONTROL	5		164,744660200
LOMBRICOMPOST	5		185,858014436
EDTA	5		192,333214710
EDTA-LOMB.	5		193,862145756
TESTIGO	5		193,904085532
Sig.		1,000	,160

3.2.4 Efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost en la actividad de la catalasa en hojas de plantas de *Schinus molle*.

Se observa en la figura 22, la influencia de los tratamientos sobre el contenido de la actividad catalasa en hojas de *Schinus molle*, mostrando un análisis de varianza con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además la prueba de especificidad de Tukey muestra que el tratamiento con fertilizante presenta mayor actividad de la catalasa, el EDTA y lombricompost con menor actividad, y que no existe diferencias entre testigo y EDTA-Lombricompost.

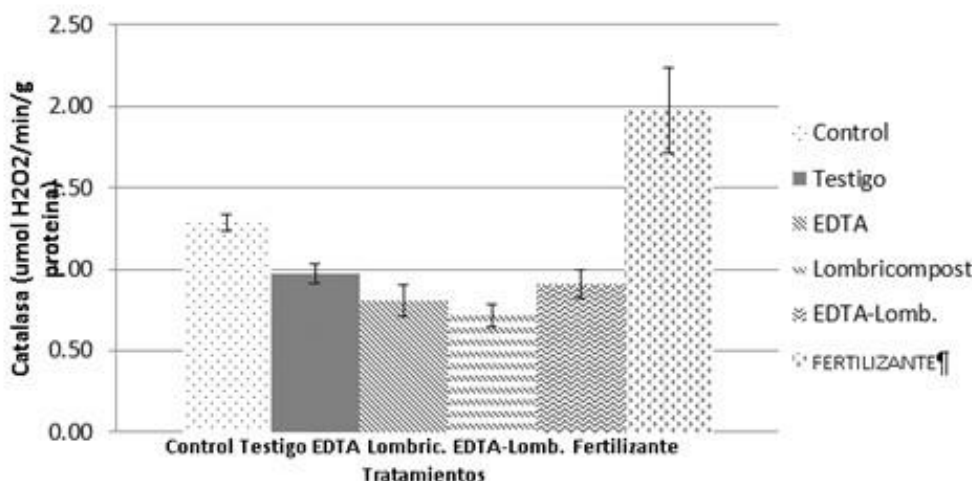


Figura N° 22: Concentración de catalasa (umol H₂O₂/min/g proteína) en hojas de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

Tabla N° 44. Análisis de varianza de un factor para catalasa (umol H₂O₂/min/g proteína) en plantas de *Schinus molle*

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	7,415	5	1,483	30,252	,000
Intra-grupos	1,177	24	,049		
Total	8,592	29			

Tabla N° 45. Comparaciones múltiples para catalasa en plantas de *Schinus molle*

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONTROL	TESTIGO	,3861989016	,1400336816	,100	-,046775603	,819173406
	EDTA	,5880387604*	,1400336816	,004	,155064256	1,021013265
	LOMBRICOMPOST	,5362144566*	,1400336816	,009	,103239952	,969188961
	EDTA-LOMB.	,3861389838	,1400336816	,100	-,046835521	,819113488
	FERTILIZANTE	-,8556271520*	,1400336816	,000	-1,288601657	-,422652647
	CONTROL	-,3861989016	,1400336816	,100	-,819173406	,046775603
TESTIGO	EDTA	,2018398588	,1400336816	,703	-,231134646	,634814363
	LOMBRICOMPOST	,1500155550	,1400336816	,888	-,282958950	,582990060
	EDTA-LOMB.	-,0000599178	,1400336816	1,000	-,433034422	,432914587
	FERTILIZANTE	-1,2418260536*	,1400336816	,000	-1,674800558	-,808851549
	CONTROL	-,3861989016	,1400336816	,100	-,819173406	,046775603
	EDTA	-,2018398588	,1400336816	,703	-,634814363	,231134646
EDTA	LOMBRICOMPOST	-,0518243038	,1400336816	,999	-,484798808	,381150201
	EDTA-LOMB.	-,2018997766	,1400336816	,702	-,634874281	,231074728
	FERTILIZANTE	-1,4436659124*	,1400336816	,000	-1,876640417	-1,010691408
	CONTROL	-,5362144566*	,1400336816	,009	-,969188961	-,103239952
	TESTIGO	-,1500155550	,1400336816	,888	-,582990060	,282958950
	EDTA	,0518243038	,1400336816	,999	-,381150201	,484798808
LOMBRICOMPOST	EDTA-LOMB.	-,1500754728	,1400336816	,888	-,583049977	,282899032
	FERTILIZANTE	-1,3918416086*	,1400336816	,000	-1,824816113	-,958867104
	CONTROL	-,3861389838	,1400336816	,100	-,819113488	,046835521
	TESTIGO	,0000599178	,1400336816	1,000	-,432914587	,433034422
	EDTA	,2018997766	,1400336816	,702	-,231074728	,634874281
	LOMBRICOMPOST	,1500754728	,1400336816	,888	-,282899032	,583049977
EDTA-LOMB.	FERTILIZANTE	-1,2417661358*	,1400336816	,000	-1,674740640	-,808791631
	CONTROL	-,3861389838	,1400336816	,100	-,819113488	,046835521
	TESTIGO	,0000599178	,1400336816	1,000	-,432914587	,433034422
	EDTA	,2018997766	,1400336816	,702	-,231074728	,634874281
	LOMBRICOMPOST	,1500754728	,1400336816	,888	-,282899032	,583049977
	FERTILIZANTE	-1,2417661358*	,1400336816	,000	-1,674740640	-,808791631

FERTILIZANTE	CONTROL	,8556271520*	,1400336816	,000	,422652647	1,288601657
	TESTIGO	1,2418260536*	,1400336816	,000	,808851549	1,674800558
	EDTA	1,4436659124*	,1400336816	,000	1,010691408	1,876640417
	LOMBRICOMPOST	1,3918416086*	,1400336816	,000	,958867104	1,824816113
	EDTA-LOMB.	1,2417661358*	,1400336816	,000	,808791631	1,674740640

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Tabla N° 46. Prueba específica de Tukey para catalasa ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/g}$ proteína) en plantas de *Schinus molle*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
EDTA	5	,719086772		
LOMBRICOMPOST	5	,770911076		
TESTIGO	5	,920926631	,920926631	
EDTA-LOMB.	5	,920986549	,920986549	
CONTROL	5		1,307125533	
FERTILIZANTE	5			2,162752685
Sig.		,702	,100	1,000

3.2.5 Índice de Bioconcentración de plomo en raíces de *Schinus molle*.

En la Tabla 23, se observa el índice de bioconcentración de plomo en las raíces *Schinus molle* en todos los tratamientos. Observamos que el tratamiento con fertilizante presentó una mayor capacidad de concentración en las raíces (6.49 mg/Kg) y la menor concentración en el EDTA-Lombricompost (3.48 mg/Kg) a comparación con el control.

En la Tabla 23, podemos ver la concentración en mg de plomo/Kg de tierra, raíz, tallo y hoja, en cada uno de los tratamientos. Observando que en el caso de tallo y hojas el límite de detección fue menor a 0.2 mg/kg, esto es, que no se detectó bioconcentración de plomo en ninguno de estos tejidos. Es por ello que con estos resultados no podemos elaborar algún tipo de gráficos para hoja y tallo.

Tabla N° 47. Concentración de plomo en cada tejido y tratamiento de *Schinus molle*.

Plomo mg/kg	Suelo	Raíz	Tallo	Hoja
CONTROL	6.25	1.92	<0.2	<0.2
TESTIGO	9.6	3.48	<0.2	<0.2
EDTA	10.13	3.57	<0.2	<0.2
LOMBRICOMPOST	10.75	3.54	<0.2	<0.2
EDTA-LOMB.	10.66	3.48	<0.2	<0.2
FERTILIZANTE	9.79	6.49	<0.2	<0.2

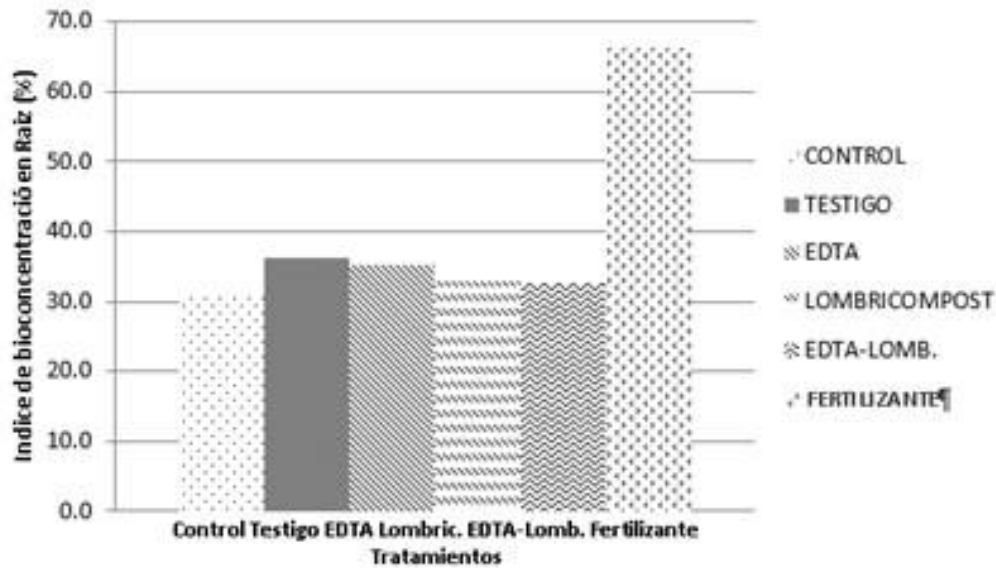


Figura N° 23: Índice de bioconcentración (%) en raíces de *Schinus molle* por efecto de la influencia de EDTA, lombricompost, fertilizante e interacción de EDTA-Lombricompost.

García (2006) el tratamiento que acumuló más plomo en la parte aérea de *Zea mays* corresponde al tratamiento en el que se suministró plomo conjuntamente con EDTA al medio de crecimiento. Diferenciando con nuestros resultados que indican que el tratamiento con plomo y EDTA no traslocaron plomo a la parte aérea, ni bioconcentró plomo en las raíces. Este hecho es indicativo de la presencia de una barrera de traslocación del plomo entre la raíz y la parte aérea, efecto ya observado por diferentes autores en relación a diferentes metales (Gunse, 1987). Pero Rondón (2015) mostró que *Schinus molle* trasloca plomo a las hojas, que a diferencia de nuestra investigación puede deberse al tiempo de exposición del metal.

Lane y Martin (1997) y Kumar et al. (1995) plantean que las raíces absorben cantidades significativas de plomo, pero, simultáneamente, restringen su traslocación a la parte aérea. Ello probablemente es debido a que la retención de plomo en las raíces se basa en la unión de plomo a los sitios de intercambio de iones sobre la pared celular y en la precipitación extracelular, principalmente en la forma de carbonato de plomo depositado en la pared celular. Rudakova et al. (1998), y García (2006) hallaron que la localización del plomo es mayor en las raíces que en la parte aérea, ello debido a que el plomo se une fuertemente a los grupos carboxilo de los carbohidratos del ácido galacturónico y del ácido glucurónico en la pared celular, lo cual

restringe su transporte vía apoplasto, a la vez que en su transporte radial a través del córtex la endodermis podría suponer una barrera parcial a su entrada en el cilindro vascular (Seregin e Ivanov, 1997). Una posible causa de la aparición de la barrera de traslocación del plomo desde la raíz a la parte aérea puede asentarse en el hecho de que la pared celular y la vacuola pueden sumar juntas el 96% del plomo absorbido (Wierzbicka y Antosiewicz, 1993) lo cual, a abajas concentraciones podría hacer de la raíz un sumidero del metal de forma que el plomo se acumule en estos compartimientos y así su biodisponibilidad para el transporte fuera baja. Wierzbicka, 1987 mostró evidencias de transporte de plomo en raíces de cebolla y consideraron que los metales pesados viajan desde la raíz hasta el xilema de las hojas como iones libres o acomplejados con un ácido orgánico siguiendo la corriente de transpiración (Lognecker y Robson, 1993).

Rondón (2015) explica que el *Schinus molle* es una planta tolerante y por ello es una especie que autorregula la síntesis y secreción de oxalato un componente que precipita el plomo y así, reduce su absorción por la raíz.

García (2006) hasta el momento ha reportado la síntesis de ciertas sustancias como el oxalato frente a la exposición con plomo en raíces de *Oryza sativa*, mostrando además que el contenido de plomo era menor con el tratamiento conjunto con EDTA, debido probablemente a los efectos detoxificadores beneficiosos del EDTA disminuyendo efectivamente la toxicidad por plomo. Piechalak et al. (2003), a diferencia del estudio anterior observó en su trabajo con *Pisum sativum* que la adición del agente quelante EDTA resulta en una toxicidad debido a que el metal se hace más limitado que cuando no se suministra el agente quelante.

Boonyapookana et al. (2005) demostraron que 80 a 87% de la absorción total de plomo se localiza en raíces de las plantas de *H. annuus* con sólo el 13-20% trasloca a las partes aéreas (rodaje) después de la cuarta semana de estudios. También informó de que una concentración muy baja del plomo se trasloca a los tejidos de las plantas aéreas. Los estudios de radiografía de mapa de tejido de la raíz del girasol revelaron los puntos de plomo, los patrones de formación de círculos concéntricos en el interior la estela, más precisamente

en la región central de haces vasculares. Estos puntos también eran visibles en la superficie de la epidermis de la raíz, en las células del parénquima de la región cortical y fuera de la endodermis. Cuando el plomo entra en la raíz de la planta, se pone de inmediato en contacto con altas concentraciones de fosfato, relativamente pH alto, y de alta concentración de carbonato-bicarbonato en los espacios intercelulares. El plomo precipita de la solución en forma de fosfatos o carbonatos que se pueden ver en las micrografías electrónicas de las raíces. Estos cuerpos de inclusión, reducen la traslocación de plomo en las plantas.

La materia orgánica en el suelo podría aumentar efectivamente la actividad de los metales en el suelo y mejorar movilidad de los estos, y su distribución en el suelo. La aplicación del abono natural (compost y vermicompost) en los suelos ha ayudado en la movilidad a través de la formación de los complejos organometálicos solubles (Yang et al., 2005), para la exudación de compuestos orgánicos por raíces de las plantas, tales como ácidos orgánicos, solubilidad influencia de iones y la absorción (Klassen et al., 2000) a través de sus efectos en la actividad microbiana, propiedades físicas de la rizosfera, y la dinámica del crecimiento de la raíz (Yang et al., 2005). Siendo la exudación radicular de la planta particular debido a su importancia por las propiedades quelante de metales complejo, así como la formación de estos para la movilización de minerales y nutrientes (Jauert et al., 2002)

La Aplicación de quelantes induce la desorción de metal a partir de minerales y aumenta la traslocación de Pb de la raíz al vástago. Un aumento de quelato de 100 a 200 ppm Pb se observó en la mostaza india (Blaylock et al, 1997; Epstein et al, 1999), mientras se observaron aumentos varias veces en los guisantes y el maíz (Huang et al., 1997). Kirkham (2000) presentando un aumento significativo del plomo cuando las plantas de girasol se cultivan en suelos contaminados con lodos de depuradora. Los quelantes no sólo facilitan la absorción y traslocación plomo, sino también protegen a las plantas del estrés oxidativo, el que se produce como resultado de la exposición a metales pesados (Pb), como se ve en las plantas de *Sesbania* crecido in vitro. Pero es interesante observar que en esta investigación a medida que se aumentaba la

concentración de quelante, era mayor el crecimiento de las plantas, en particular de las raíces, mientras que a bajas concentraciones se veía afectada el crecimiento de las mismas (Ruley et al., 2004)

Estudios en los mecanismos de toxicidad del plomo sugieren que se une a los ácidos nucleicos y provoca la agregación y la condensación de cromatina, así como la estabilización de ADN de doble hélice, pero inhibe los procesos de replicación, transcripción y en última instancia la división celular y el crecimiento de las plantas (Johnson, 1998). La aplicación de quelantes al suelo contaminado puede formar complejos con plomo, inactivando y minimizando los impactos citológicos de iones metálicos libres. (Ruley et al., 2004), y esto también puede ser una de las razones para un mejor crecimiento de las plantas de *Sesbania* en presencia de un quelante.

La incorporación de enmiendas orgánicas puede estabilizar los metales en el suelo, reduciendo la disponibilidad de metal y la movilidad. Ya que los suelos contaminados con metales pesados a menudo se caracterizan por un bajo contenido de materia orgánica, los bajos niveles de nutrientes (nitrógeno, potasio y fósforo) y otras anomalías físicas, la adición de diversas enmiendas: tales como materiales orgánicos o fertilizantes inorgánicos es necesaria para el crecimiento de la planta. La adición de elementos nutrientes N y P en forma de fertilizantes pueden afectar a la remediación de metales pesados a través de la promoción del metabolismo normal de las plantas o de cambiar las formas de los metales (Sun et al., 2007).

La adición de enmiendas como el lombricompost al suelo, proporciona una liberación lenta de las fuentes de nutrientes tales como N, P, K para apoyar el crecimiento de plantas.

Por otro lado. La adición de fertilizantes puede mejorar el crecimiento microbiano como rizosfera de plantas, bacterias promotoras de crecimiento, y además estos harán potenciar la disponibilidad de metales pesados a las plantas. Además, los fertilizantes son un elemento esencial para el éxito de la restauración de los desechos de las minas coincidimos con Elouear et al

(2016) quien nos indica que la mayor concentración de fertilizante inorgánico, aumento notablemente la concentración de plomo en las raíces de alfalfa, a diferencia del tratamiento con fertilizante orgánico.



CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

- PRIMERA:** El tratamiento con EDTA en presencia de plomo, en plantas de *Schinus molle*, presentó valores bajos en la longitud (23.24cm), peso fresco (0.96 g) y seco (0.39g) de raíz; longitud (39.49cm), peso fresco (1.79g) y seco (0.50g) de los tallos y peso fresco (3.78g) y seco (1.12g) de las hojas. La respuesta fisiológica muestra baja concentración (0.80umol H₂O₂/min/g proteína) en la actividad catalasa, alta concentración (192.32mg/g P.F.) de pigmentos fotosintéticos y proteínas con respecto al control (164.74mg/g P.F.). Mostrando un índice de bioconcentración de plomo del 35%.
- SEGUNDA:** El tratamiento con fertilizante en presencia de plomo, presentó una mejora en la capacidad de fitoextracción de este metal en plantas de *Schinus molle* siendo este tratamiento el único en que las raíces acumularon plomo (66.29%). Presentando una disminución marcada en el crecimiento obteniendo los valores más bajos en la longitud, peso fresco y seco de raíz, tallo y hojas, pero con un mayor desarrollo radicular. En cuanto a la respuesta fisiológica las concentraciones de malondialdehído (17.68mm MDA/g P.F.), catalasa (1.97umol H₂O₂/min/g proteína) y carotenos (0.00000023mg/g P.F.) fueron las más altas. Los pigmentos fotosintéticos y proteínas con concentraciones relativamente bajas. Con un índice de bioconcentración de plomo del 66.29%.
- TERCERA:** El tratamiento con lombricompost en presencia de plomo, presentó mejoras en el crecimiento de plantas de *Schinus molle*, aumentando la biomasa de raíz (1.30g), tallo (2.55g) y hojas (5.30g), a pesar de que la respuesta fisiológica en cuanto a la concentración de malondialdehído sea alta. Además, las concentraciones de pigmentos fotosintéticos, carotenos y proteínas no mostraron alteraciones, a diferencia de la actividad catalasa que tuvo una menor concentración (0.80umol H₂O₂/min/g proteína), en relación al control (1.28umol H₂O₂/min/g proteína). Mostrando un índice de bioconcentración de plomo del 32.93%.

CUARTA: El tratamiento que presenta la interacción EDTA-Lombricompost en presencia de plomo, presentó valores bajos en la longitud (26.38cm), peso fresco (0.83g) y seco (0.39g) de raíz; longitud (35.29cm), peso fresco (2.06g) y seco (0.41g) de tallo, así como el peso fresco (4.10g) y seco (1.27g) de las hojas. La respuesta fisiológica muestra concentraciones altas en malondialdehído (19.16mm MDA/g P.F.), pigmentos fotosintéticos (0.00000045 y 0.00000049 mg/g P.F.), carotenos (0.00000020 mg/g P.F.) y proteínas (193.86 mg/g P.F.), a diferencia de la concentración en catalasa (0.91 umol H₂O₂/min/g proteína) que mostró valores bajos. Mostrando un índice de bioconcentración de plomo del 32 %.

QUINTA: El molle (*Schinus molle*) es una planta con la cual se ha iniciado los experimentos, para remediar suelos contaminados con metales pesados, producidos por relaves mineros (plomo). De acuerdo a los resultados obtenidos se puede decir que, con esta planta, optimizando los métodos, se podrán en el futuro limpiar o remediar grandes extensiones de terrenos contaminados, porque es la que más soporta la contaminación.

La investigación que hemos realizado podrá ser utilizada como base por nuevas generaciones, que deseen experimentar con a planta de Molle para descontaminar suelos, cambiando los métodos de acuerdo a los resultados que van obteniendo.

CAPÍTULO V

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albert A. Lilia. Curso básico de toxicología ambiental. 1990. Editorial Limusa-Noriega, México DF
2. Antonio D C, Pablo Sánchez V. G, Marina L .N, Silvia Toro Cárdenas e Inmaculada A. J, Noviembre 2006 De la Escuela Andaluza de Salud Pública, Estudio sobre la exposición la población del campo de metales pesados de Gibraltar, Granada
3. Arshad M, Silvestre J, Pinelli E, Kallerhoff J, Kaemmerer M, Tarigo A, Shahid M, Guiresse M, Pradere P, Dumat C (2008) A field study of lead phytoextraction by various scented *Pelargonium* cultivars. *Chemosphere* 71(11):2187–2192
4. ATSDR (2003) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <http://www.atsdr.cdc.gov>.
5. Azooz AA., Youssef MM. and Al-qamir MA. 2011. Comparative valuation of zing and lead and their synergistic effects on growth and physiological responses of Hassawai okra (*Hibiscus esculentus*) seedling. *Am. J. Plant phydiolo*, 6(6):269-282.
6. Bačkor, M., and P. Váczi. 2002. “Copper Tolerance in the Lichen Photobiont *Trebouxia Eri*ci (Chlorophyta).” *Environmental and Experimental Botany* 48(1): 11–20.
7. Baker, A J M. 1987. “Metal Tolerance.” *New Phytologist* 106(1 Supplement): 93–111. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0023497048&partnerID=40&md5=fde6197e153e85954ef7633b661e5004>.
8. Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D. y Smith, J.A.C. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. En: *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water* (eds. Terry, N. y Bañuelos, G.), pp. 85-107, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.

9. Barceló, J.; Poschenrieder, C. Julio 1989. Estrés vegetal inducido por metales pesados. *Investigación y Ciencia*, N° 154, 54-63.
10. Barceló Joan, and Charlotte Poschenrieder. 2003. "Phytoremediation : Principles and Perspectives." *Contributions to Science, Institut d'Estudis Catalans, Barcelona* 2(3): 333-44.
11. Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., (1997). Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science and Technology* 31, 860-865.
12. Breckle CW. 1991. Grow under heavy metals. *Plants roots: the hidden half*. New York, NY: Marcel Dekker, 351-373.
13. Boonyapookana B., Parkpian P., Techapinyawat S., Delaune R.D., Jugsujinda A., (2005), Phytoaccumulation of lead by Sunflower (*Helianthus annuus*), Tobacco (*Nicotiana tabacum*), and Vetiver (*Vetiveria zizanioides*), *Journal of Environmental Science and Health*, 40, 117-137.
14. Cecchi M, Dumat C, Alric A, Felix-Faure B, Pradere P, Guisresse M (2008) Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma* 144(1-2):287-298
15. Chaignon V., Hinsinger P., (2003), A biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil, *J. Environ. Qual.*, 32, 824-833.
16. Chhotu D, y Madhusudan H. (2008) Phytoremediation: The Application Of Vermicompost To Remove Zinc, Cadmium, Copper, Nickel And Lead By Sunflower Plant. 7,5,547-558.
17. Committee on Measuring Lead in Critical Populations. 1998. Measuring lead exposure in infants children and other critical populations. Washington DC: National Academy Press.
18. Cunningham, S. D., W. R. Berti, and J. W. Huang. 1995. "Phytoremediation of Contaminated Soils." *Trends in Biotechnology* 13(9): 393-97.

19. Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). *Journal of Experimental Botany* 52, 1101-1109.
- Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii*. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 899-906
20. Doris A. Cash. 2003. Introduction to operator air sampling programs, Health Division, Metal and nonmetal mine safety and health. EUUA
21. Donghua L., Wusheng J., Wei W., Fengmei Z. and Cheng L. 1993. Effects on root growth, cell division, and nucleolus of *Allium cepa*. *Environmental pollution* 86(1994)1-4.
22. Eick, Matthew J., John D. Peak, Patrick V. Brady, and John D. Pesek. 1999. "Kinetics Of Lead Adsorption/Desorption On Goethite: Residence Time Effect." *Soil Science* 164(1): 28–39.
23. Elzbieta W, Mirosława C (2005) Lead-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Soil Sci Plant Nutr* 51(2):203–212
24. Epstein, A.L., Gussman, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulnik, Y., Orser, C.S., (1999). EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant and Soil* 208, 87-94.
25. Eun, S O, H S Youn, and Y Lee. 2000. "Lead Disturbs Microtubule Organization in the Root Meristem of *Zea Mays*." *Physiologia Plantarum* 110(3): 357–65. <Go to ISI>://WOS:000165369900010.
26. Fernandes, J. C., and F. S. Henriques. 1991. "Biochemical, Physiological, and Structural Effects of Excess Copper in Plants." *The Botanical Review* 57(3): 246–73.
27. Graeme, Kimberlie A., and Charles V. Pollack. 1998. "Heavy Metal Toxicity, Part II: Lead and Metal Fume Fever." *Journal of Emergency Medicine* 16(2): 171–77.
28. García I.; Dorronsoro C. Mayo 2005. TEMA 15. CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS. *TECNOLOGÍA DE SUELOS*, N°1, 23 -26. Mayo 2015, De Universidad de Granada Base de datos.

29. García D. 2006. Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de *Zea mays* L. expuestas a la toxicidad de plomo. Tesis para optar el grado de Doctora en Ciencias Biológicas por la universidad autónoma de Barcelona. España.
30. Gunsé B. 1987. Efectos del cromo sobre la nutrición y relaciones hídricas de *Phaseolus vulgaris*. Universidad Autónoma de Barcelona
31. Gupta D, Nicoloso F, Schetinger M, Rossato L, Pereira L, Castro G, Srivastava S, Tripathi R (2009) Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. *J Hazard Mater* 172(1):479–484
32. Herbert. C, Raúl. R, 2004 Control de la contaminación ambiental, España
33. Hooker, Paul J., and C. P. Nathanail. 2006. “Risk-Based Characterisation of Lead in Urban Soils.” *Chemical Geology* 226(3-4): 340–51.
34. Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.R., Cunningham, S.D., (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology* 31, 800-805
35. Jauert P., Schumacher T.E., Boe A., Reese R.N., (2002), Rhizosphere acidification and cadmium uptake by strawberry clover, *J. Environ. Qual.*, **31**, 627-633
36. Jarvis, M. D., and D. W M Leung. 2002. “Chelated Lead Transport in *Pinus Radiata*: An Ultrastructural Study.” *Environmental and Experimental Botany* 48(1): 21–32.
37. Johnson, F.M., 1998. The genetic effects of environmental lead. *Mutation Research* 410, 123-140.
38. Klassen S.P., McLean J.E., Grossel P.R., Sims R.C., (2000), Fate and behavior of lead in soils planted with metalresistant species (River birch and smallwing sedge), *J Environ. Qual.*, 29, 1826-1834.
39. Kosobryukhov, Anatoly Aleksandrovich. 2004. “*Plantago Major* Plants Responses to Increase Content of Lead in Soil: Growth and Photosynthesis A. Kosobrukhov, I. Knyazeva and V. Mudrik.” *Journal of Plant Growth Regulation* 42: 145–51. http://www.researchgate.net/publication/262723958_Plantago_major_plants_responses

- to_increase_content_of_lead_in_soil_Growth_and_photosynthesis_A._Kosobrukhov_I._Knyazeva_and_V._Mudrik (June 8, 2015).
40. Kramer U., Chardonnens A.N., (2001), The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements, *Appl. Microbiol Biotechnol.*, **55**, 661-672.
 41. Kirkham, M.B., 2000. EDTA-facilitated phytoremediation of soil with heavy metals from sewage sludge. *International Journal of Phytoremediation* 2, 159-172.
 42. Krzesłowska M, Lenartowska M, Samardakiewicz S, Bilski H, Woźny A (2010) Lead deposited in the cell wall of *Funaria hygrometrica* protonemata is not stable—a remobilization can occur. *Environ Pollut* 158(1):325–338
 43. Krzesłowska M, Lenartowska M, Mellerowicz EJ, Samardakiewicz S, Wozny A (2009) Pectinous cell wall thickenings formation—a response of moss protonemata cells to lead. *Environ Exp Bot* 65(1):119–131
 44. Kumar NPLOMOA., Dushenkov V., Motto H. and Raskin I. 1995. Phytoextraction: the use of plant to remove heavy metals from soils *Environ. Sci.Technol.* 29:1232-1238.
 45. Lagerwerff, J.V., 1983. plomo, mercurio y cadmio como contaminantes ambientales. En: J.J. Mortvedt, P.M. Giordano and W.L. Lindsay, (Eds), *Micronutrientes en Agricultura*. AGT Editor, México, pp. 655 702.
 46. Lane SD. and Martin ES. 1977. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytol.* 79:281-286.
 47. Lasat, Mitch M. 2002. “Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms.” *Journal of environmental quality* 31(1): 109–20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11837415>.
 48. Li, Zhiyuan et al. 2014. “A Review of Soil Heavy Metal Pollution from Mines in China: Pollution and Health Risk Assessment.” *The Science of the total environment* 468-469: 843–53. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076505>.
 49. Lognecker N. y Robson AD., 1993. Distribution and transport of zinc in plant. Kluwer Acad Publ, Dordrecht, Holanda PP.79-91.

50. Macnair, M.R. 2003. The hyperaccumulation of metals by plants. *Advances in Botanical Research* 40: 63-105.
51. Maestri E, Marmiroli M, Visioli G, Marmiroli N (2010) Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. *Environ Exp Bot* 68(1):1–13
52. Makkonen, R. et al. 2012. “Air Pollution Control and Decreasing New Particle Formation Lead to Strong Climate Warming.” *Atmospheric Chemistry and Physics* 12(3): 1515–24.
53. Mani D., Kumar N. and Mourya K., 2013. Phytoremediation potencial of indian mustard (*Brassica juncea* L.) in lead- contaminated soils. *New Agriculturist*, 24(29): 153-160.
54. Martín M^a Ángeles. Junio de 2008 Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada Facultad de Ciencias. Dpto. de ingeniería Química
55. Mazhoudit S, Chaqui A, Ghorbal Mh, Ferjan E.1997. Response of antioxidant enzymes to excess cooper in tomato (*Lycopersicon esculentum* , Mill). *Plant Sci* 127:129-137
56. Mejía Sandoval, Gregory. 2006 Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 1 (1):77-99.
57. Melgarejo LM, (2010) Pruebas bioquímicas como herramientas para estudios en fisiología. Universidad Nacional de Colombia. http://www.bdigital.unal.edu.co/8545/27/12_Cap10.pdf
58. Meyers DER, Auchterlonie GJ, Webb RI, Wood B (2008) Uptake and localisation of lead in the root system of *Brassica juncea*. *Environ Pollut* 153(2):323–332
59. Mishra S, Srivastava S, Tripathi R, Kumar R, Seth C, Gupta D (2006) Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of

- phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65(6):1027–1039
60. M. N. V. Prasad. (2003). Fitorremediación aplicaciones, ventajas e inconvenientes . La ecofisiología vegetal : una ciencia de síntesis , N°12, págs. 1075-1110.
61. Nandakumar P., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. (1995), Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 1232-1238.
62. Obrucheva NV., Bystrova EI, Ivanov VB., Anopova OV, Seregin IV. (1998). Root growth responses to lead in young maize seedlings. *Plant Soil* 200:55-61
63. Olivares, E., Peña E. (2009). Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (*Bledo pira*), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia*. 34: 604-611.
64. Patterson, C, J Ericson, M Manea-Krichten, and H Shirahata. (1991). “Natural Skeletal Levels of Lead in Homo Sapiens Sapiens Uncontaminated by Technological Lead.” *The Science of the total environment* 107: 205–36.
65. Piechalak A., Tomaszewska B., Baralkiewicz D. (2003). Enhancing phytoremediative ability of *Pisum sativum* by EDTA application. *Phytochemistry*. 64: 1239-1251.
66. Pourrut B., Shahid M., Dumat C., Winterton P. and Pinelli E. (2011) Lead Uptake, toxicity and detoxification in plants. *Reviews of environmental Contamination and Toxicology*. Volumen 213, Issue 4, pp 113-131
67. Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M, Das P (2010) Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. *J Hazard Mater* 177(1–3):465–474
68. Rondón RL. 2014 Bioacumulacion de plomo e influencia de la materia orgánica en el potencial de fitorremediacion de *Schinus molle* Tesis para optar el grado académico de Doctora en ciencias con mención en biología ambiental. Universidad nacional San Agustín de Arequipa. Perú.
69. Rossel J., Wilson P., Hussain D., Woo N., Gordon M., Mewett O., Howell K., Whelan J., Kazan K. y Pogson B. 2007. Systemic and intracellular responses to photooxidative

- Stress in Arabidopsis. The plant cell December 2007 vol. 19 Número 12 pag.4091-4110.
70. Rudakova EV., Karakis KD, Sidorshina ET. 1998. The rol of plant cell walls in the uptake and accumulation of metal ions. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast.* 20:3-12.
71. Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii*. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 899-906.
72. Ruley A, Sharma N, Sahi S, Singh S y Sajwan S. (2006). Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental Pollution* 144, 11-18.
73. Salud ambiental. 2004 Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al plomo (Plomo). Valor normado para la concentración del plomo (Plomo) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población”. Norma Oficial Mexicana NOM-026-SSA1-1993. Diario Oficial de la Federación, México
74. Salt, D. E., R. D. Smith, and I. Raskin. 1998. “PHYTOREMEDIATION.” *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49(1): 643–68.
75. Seregin IV., Ivanov VB. , 2011. Physiological Aspects of Cadmium and Lead Toxic Effects on Higher Plants. *Russian Journal of Plant physiology*. July 2001, Volumen 48, Issue 4, pp 523-544
76. Sharma, Pallavi, & Dubey, Rama Shanker. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35-52. Retrieved June 06, 2015, from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202005000100004&lng=en&tlng=en.10.1590/S1677-4202005000100004.
77. Sierra C. y Rojas C. 2012. La materia orgánica y su efecto como enmienda y mejorador de la productividad de los cultivos. CRI. Intihuasi. La Serena. Chile.
78. Singh SS. and Dsouza SF. 2006. Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and oxidative system in an aquatic plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*. 62: 233-246.

79. Silbergeld, E. K. 1991. "Lead in Bone: Implications for Toxicology during Pregnancy and Lactation." In *Environmental Health Perspectives*, , 63–70.
80. Silva, Joelmir Marques, and Josilane Rodrigues Santos. 2007. "Toxicología de Agrotóxicos Em Ambientes Aquáticos." *Oecologia Brasiliensis* 11(04): 565–73.
81. Stiborova M, Ditrichova M, Brezinova A (1987) Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedlings. *Biol. Plant.* 29:453467.
82. Stoltz, Eva, and Maria Greger. 2002. "Accumulation Properties of As, Cd, Cu, plomo and Zn by Four Wetland Plant Species Growing on Submerged Mine Tailings." *Environmental and Experimental Botany* 47(3): 271–80.
83. Schat, H., Llugany, M., Vooijs, R., Hartley-Whitaker, J. y Bleeker, PM. 2002. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *J. Exp. Bot.* 53: 2381-2392.
84. Scragg A., 1999, *Biología Medioambiental*, España, editorial ACRIBIA, S.A.
85. U.S. Geological Survey (2009)
<http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/lead/>
86. Uzu G, Sobanska S, Sarret G, Munoz M, Dumat C (2010) Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. *Environ Sci Technol* 44:1036–1042
87. Verma, Shalini, and R. S. Dubey. 2003. "Lead Toxicity Induces Lipid Peroxidation and Alters the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Plants." *Plant Science* 164(4): 645–55.
88. Wisniewski, Louise, and Nicholas M. Dickinson. 2003. "Toxicity of Copper to *Quercus Robur* (English Oak) Seedlings from a Copper-Rich Soil." *Environmental and Experimental Botany* 50(1): 99–107.
89. Wierzbicka M. and Antosiewicz D., 1993. How lead can easily enter food chain a of study plant roots. *Sci, Total Environ. Suppl.* 1:423-429.

90. Wierzbicka M., 1987. Lead accumulation and its translocation in roots of *Allium cepa* L. autoradiographic and ultrastructural studies. *Plant Cell Environ.* 10:17-26.
91. Xiong, Z.-T., (1997). Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus*. *Environmental Pollution* 97, 275e279
92. Xiong ZT. 1998. Lead uptake and effects on seed germination and plant growth in a plomo, hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. B. *Environmental contamination and toxicology*, New York. Volumen 60, p.285-291
93. Yang X.E., Peng H.Y., Jiang L.Y., (2005), Phytoremediation of Copper from contaminated soil by *Elsholtzia splendens* as affected by EDTA, citric acid, and compost, *International Journal of Phytoremediation*, 7, 69-83.
94. Zhang P., Zhou Q. and Jiang H. 2007. Alleviate effects of exogenous ascorbate acid on Cd stress of rape seedings. *Plant physiology*. 73-77.

