



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

ABSORCIÓN Y BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS DE TRES ESPECIES VEGETALES INTRODUCIDAS EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA EN RELAVES MINEROS

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR/ES: ARACELY YAREN ESPINOZA PINCAY

RONNY PAÚL VALLEJO CAICEDO

DIRECTOR: Ing. ANDRÉS AGUSTÍN BELTRÁN DÁVALOS MSc.

RIOBAMBA-ECUADOR

2019

© 2019, Aracely Yaren Espinoza Pincay y Ronny Paúl Vallejo Caicedo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal de trabajo de titulación certifica que: El Proyecto de Investigación “ABSORCIÓN Y BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS DE TRES ESPECIES VEGETALES INTRODUCIDAS EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA EN RELAVES MINEROS”, de responsabilidad de la señorita ARACELY YAREN ESPINOZA PINCAY y el señor RONNY PAÚL VALLEJO CAICEDO, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Diego Vacili Burbano Salas
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Andrés Agustín Beltrán Dávalos
**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dra. Susana del Pilar Abdo López
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Nosotros, ARACELY YAREN ESPINOZA PINCAY y RONNY PAÚL VALLEJO CAICEDO somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Aracely Yaren Espinoza Pincay
Ronny Paúl Vallejo Caicedo

DEDICATORIA

A Dios, porque está conmigo en cada paso que doy, dándome fortaleza para continuar.

A mis padres Olger y Nidia, pilares fundamentales en mi vida; por su paciencia, depositando su entera confianza en cada reto que se me presentó sin dudar ni un solo momento de mí. Por su incondicional apoyo mantenido a través del tiempo, pero más que nada por su amor. Los amo con mi vida.

A mi hija Victoria quien es mi motor y mi mayor inspiración.

A mis hermanos, Nick y Oliver, por estar conmigo y apoyarme siempre.

YAREN

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por ser el promotor de nuestras vidas, su amor y bondad nos permitió alcanzar este nuevo triunfo.

Esta investigación ha sido una bendición en todo sentido pues llegó de la mano de nuestra pequeña Niara, quien llena nuestra vida de aprendizaje y felicidad; el camino no fue sencillo pero cada obstáculo nos hizo crecer de diversas maneras.

Gracias a nuestros padres por su paciencia, confianza y por la oportunidad de cumplir con esta meta profesional, pero sobre todo por los valores inculcados que nos formó como mejores seres humanos, gracias a ustedes logramos llegar hasta aquí.

A nuestros hermanos(a) por su apoyo en las buenas y en las malas.

A nuestras familias gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante de nuestras vidas, sino en todo momento apoyándonos y buscando lo mejor para nosotros.

A nuestro director y miembro de titulación por su contribución en la realización de esta investigación, por haber compartido sus conocimientos y su amistad.

Finalmente, a todas aquellas personas que nos brindaron su apoyo, tiempo e información para la culminación de esta investigación.

YAREN Y PAÚL

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO I	3
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	3
1.1 Marco conceptual	3
1.1.1 <i>El suelo</i>	3
1.1.2 <i>Calidad del suelo</i>	3
1.1.3 <i>Contaminación de suelos</i>	5
1.1.4 <i>Dinámica de los metales pesados en el suelo</i>	7
1.1.5 <i>Factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de metales</i>	8
1.1.6 <i>Metales pesados</i>	9
1.1.7 <i>Tolerancia de las plantas hacia los metales pesados</i>	10
1.1.8 <i>Acumulación de metales pesados en las plantas</i>	11
1.1.9 <i>Mecanismo de respuesta de los vegetales a la presencia de metales pesados</i>	11
1.1.10 <i>Explotaciones mineras</i>	13
1.1.11 <i>Tecnologías tradicionales para la recuperación de suelos contaminados</i>	13
1.1.12 <i>Fitocorrección de suelos contaminados</i>	14
1.1.13 <i>Especies vegetales</i>	15
1.1.14 <i>Factores de concentración</i>	17
1.2 Marco normativo	19
1.2.1 <i>Constitución de la república del Ecuador</i>	19
1.2.2 <i>Ley de minería</i>	21
1.2.3 <i>Acuerdo Ministerial N° 028</i>	22
CAPÍTULO II	25
2. MARCO METODOLÓGICO	25

2.1	Tipo de Estudio	25
2.2	Modelo Experimental	25
2.2.1	<i>Recolección de relave minero</i>	25
2.2.2	<i>Selección y recolección de las muestras de relave minero y sustrato</i>	25
2.2.3	<i>Preparación de los bioensayos</i>	26
2.2.4	<i>Selección y siembra de especies vegetativas en las unidades experimentales</i>	26
2.2.5	<i>Registro de crecimiento de las plantas</i>	27
2.2.6	<i>Selección, toma de muestras y análisis de las unidades experimentales post cosecha</i>	27
2.2.7	<i>Evaluación del factor de bioacumulación/bioconcentración y traslocación</i>	30
2.2.8	<i>Análisis estadístico</i>	32
CAPÍTULO III		33
3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS ...	33
3.1	Desarrollo morfológico de las plantas	33
3.2	Determinación de los índices foliar y caulinar	35
3.3	Concentración de metales pesados en el relave minero	35
3.4	Bioconcentración de metales pesados en las cuatro especies vegetales introducidas en la Amazonía ecuatoriana	37
3.5	Análisis estadístico	59
3.5.1	<i>Modelo estadístico para determinar que factor de concentración es el más eficiente en cuanto a la especie vegetal</i>	59
3.5.2	<i>Modelo estadístico para determinar la especie vegetal más eficiente</i>	60
3.5.3	<i>Modelo estadístico para determinar que metal se concentró mayormente mediante los factores de concentración</i>	62
3.6	Análisis de resultados	68
CONCLUSIONES		70
RECOMENDACIONES		71
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Indicadores físicos, químicos y biológicos para controlar los cambios en el suelo	4
Tabla 1-2: Clases de factores de enriquecimiento de un metal pesado.	19
Tabla 1-3: Criterios de calidad de suelo.	22
Tabla 2-1: Parámetros, método, marca y serie del espectrofotómetro.	30
Tabla 2-2: Concentración de metales en parte aérea de la planta	31
Tabla 2-3: Factor de bioconcentración en parte aérea de la planta	31
Tabla 2-4: Factor de bioconcentración en la parte raíz de la planta	32
Tabla 2-5: Factor de traslocación	32
Tabla 3-1: Estadísticos descriptivos de los parámetros de las especies vegetales	34
Tabla 3-3: Índices foliar y caulinar de las tres especies vegetales	35
Tabla 3-4: Concentración de metales en parte aérea de la planta	38
Tabla 3-5: Factor de bioconcentración en parte aérea de la planta	38
Tabla 3-6: Factor de bioconcentración en la parte raíz de la planta	39
Tabla 3-7: Factor de traslocación	39
Tabla 3.5-1: Concentraciones <i>Pennisetum purpureum</i> según Waller-Duncan a,b	60
Tabla 3.5-2: Concentraciones <i>Brachiara brizantha</i> según Waller- Duncan a,b	61
Tabla 3.5-3: Concentraciones <i>Flemingia macrophylla</i> según Waller- Duncan a,b	61
Tabla 3.5-4: Concentraciones de BCF raíz según Waller- Duncan a,b	62
Tabla 3.5-5: Concentraciones de BCF aérea según Waller- Duncan a,b	62
Tabla 3.5-6: Concentraciones de BCF aérea según Waller- Duncan a,b	62
Tabla 3.5-7: Concentración de metales bioacumulados en la raíz según Waller- Duncan a,b	63
Tabla 3.5-8: Concentración de metales bioacumulados en la parte aérea según Waller- Duncan a,b	65
Tabla 3.5-9: Concentración de metales traslocados según Waller- Duncan a,b	67

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3-1: Diagrama de Pareto de los metales de interés.....	37
Gráfico 3-2: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Arsénico	40
Gráfico 3-3: Comparación promedio del FT del Arsénico en las plantas	41
Gráfico 3-4: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cadmio.....	42
Gráfico 3-5: Comparación promedio del FT del Cadmio en las plantas	43
Gráfico 3-6: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cromo	44
Gráfico 3-7: Comparación promedio del FT del Cromo en las plantas	45
Gráfico 3-8: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cobre.....	46
Gráfico 3-9: Comparación promedio del FT del Cobre en las plantas	47
Gráfico 3-10: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Manganeso.....	48
Gráfico 3-11: Comparación promedio del FT del Manganeso en las plantas	49
Gráfico 3-12: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Plomo	50
Gráfico 3-13: Comparación promedio del FT del Plomo en las plantas	51
Gráfico 3-14: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea de Níquel.....	52
Gráfico 3-15: Comparación promedio del FT del Níquel en las plantas.....	53
Gráfico 3-16: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Zinc	54
Gráfico 3-17: Comparación promedio del FT del Zinc en las plantas	55
Gráfico 3-18: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Selenio	56
Gráfico 3-19: Comparación promedio del FT del Selenio en las plantas.....	57
Gráfico 3-20: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Vanadio.....	58
Gráfico 3-21: Comparación promedio del FT del Vanadio en las plantas.....	59
Gráfico 3.4-1: Metales bioacumulados en la raíz de la planta	64
Gráfico 3.4-2: Metales bioacumulados en la parte aérea de la planta.....	66
Gráfico 3.4-3: Metales traslocados de la raíz a la parte aérea de la planta	68

ABREVIATURAS

CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico

BF: Índice de Bioconcentración

TC: Coeficiente de Transferencia

BAC: Coeficiente de Bioacumulación

BCF: Factor de Bioconcentración

BAF: Factor de Bioacumulación

FE: Factor de Enriquecimiento

FT: Factor de Traslocación

ICP: Plasma de Acoplamiento Inductivo

CESTTA: Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental

LABSU: Laboratorio de Suelos de Orellana

INIAP: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la absorción y bioacumulación de metales pesados de tres especies vegetales introducidas en la Amazonía ecuatoriana en relaves mineros. Este estudio desarrolló un diseño descriptivo ya que se estudian tres tipos de tratamientos dando como resultado un amplio banco de datos y correlacional debido a que las interacciones de estas variables determinarán la evolución del fenómeno de estudio. Se determinó la concentración de metales pesados presentes en el relave minero mediante el Análisis de Absorción Atómica de los cuales se seleccionó los 10 metales de mayor interés mediante el Diagrama de Pareto; para su posterior tratamiento con las especies vegetales *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha*, el crecimiento de las plantas se verificó en base al seguimiento semanal del desarrollo morfológico y fisiológico. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA de un factor) a cuatro repeticiones de los tratamientos aplicados, al nivel de significancia de 5% y con una probabilidad del 95% respectivamente, lo que indicó que existe diferencias significativas entre las medias de las concentraciones de los 10 metales en los factores de bioconcentración en la raíz, bioconcentración en la parte aérea y factor de traslocación. Los resultados nos permitieron conocer que los metales pesados que se acumularon mayormente fueron el Cadmio en las raíces y el Plomo en la parte aérea de la planta; mientras que el metal que se trasladó mayormente de la raíz a la parte aérea es el Arsénico. En conclusión, la especie vegetal más eficiente para realizar procesos de fitorremediación es la *Flemingia macrophylla* ya que esta presentó mayor concentración de metales bioacumulados en la parte vegetativa de las plantas.

PALABRAS CLAVE:<BIOTECNOLOGÍA>, <FITORREMEDIACIÓN>, < FLEMINGIA NEGRA (*Flemingia macrophylla*)>, <PASTO ELEFANTE (*Pennisetum purpureum*)>, <MARANDÚ (*Brachiara brizantha*)>, <BIOACUMULACIÓN>, <TRASLOCACIÓN>, <METALES PESADOS>, <RELAVE MINERO>, <MINA DUVINO>.

ABSTRACT

The objective of the current research was to determine the absorption and bioaccumulation of heavy metals of three plant species introduced into the Ecuadorian Amazon in mine tailings. The research work developed a descriptive design due to three types of treatments were studied, giving as result a large data base and correlation because the interaction of the variables that determined the evolution of the study phenomenon. It established the concentration of the heavy metals that are present in the mine tailings, through the Atomic Absorption Analysis; being selected 10 metals of greater interest by means of the Pareto Diagram for further treatment with the plant species such as: *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* and *Brachiara brizantha*. The growth of the plants was verified according to the weekly monitoring of the morphological and physiological development. On the other hand, it applied the analysis of variance (One-Way ANOVA) through four repetitions of the treatments applied with a level of 5% and a probability of 95% respectively, indicating that there are significant differences between the average of concentrations of the 10 metals in the factors of Bioconcentration in the root, Bioconcentration in the aerial part of the plant and Translocation factor. The results allowed knowing that the heavy metals that accumulated mostly were: Cadmium in the roots and Lead in the aerial part of the plant; while the metal that moved from the root to the aerial part is the Arsenic. In conclusion, the most efficient plant species to carry out the phytoremediation processes is *Flemingia macrophylla*, since presented a higher concentration of bioaccumulated metals in the vegetative part of the plants.

KEY WORDS: BIOTECHNOLOGY, PHYTOREMEDIATION, FLEMINGIA NEGRA (*Flemingia macrophylla*) ELEPHANT GRASS (*Pennisetum purpureum*), (MARANDÚ) (*Brachiara brizantha*), (BIOACCUMULATION), (HEAVY METALS), (MINE TAILINGS)

INTRODUCCIÓN

Los metales tienden a acumularse en la superficie del suelo quedando accesibles al consumo de las raíces de los cultivos, por lo cual se debe tomar en consideración las características de los suelos ya que esto ayuda al aumento o disminución de la toxicidad de los metales en el mismo; según Colombo et al. (1998) los jales son tóxicos para los organismos vivos y son inhibidores de factores ecológicos afectando el crecimiento de las plantas (Puga et al. 2006).

El suelo contaminado debido a la acción minera principalmente contiene trazas de metales pesados que son bioacumulados por la biota que se encuentra en contacto con el residuo minero (relave). Las actividades efectuadas por la industria minera ocasionan efectos perjudiciales para los componentes abióticos, bióticos, micros climáticos y geomorfológicos del ecosistema que obstaculizan el proceso de recuperación natural del suelo (Macías, 1996); citado en (Ortiz et al. 2007). Existen especies tolerantes que tienen la capacidad de subsistir a la presencia de metales pesados, esto se debe a la interacción entre el genotipo y su ambiente, (Kuiper, 1984), citado en (MEDINA y MONTALVO 2013) también al desarrollo de innumerables estrategias establecidas en mecanismos de hiper acumulación en forma no toxica o exclusión fuera de sus tejidos (Baker 1981).

En base a los cambios producidos debido a la contaminación de suelos con metales pesados, es importante la aplicación de metodologías y estrategias que faciliten la posibilidad de llevar a cabo la recuperación del suelo proporcionándole un estado semejante al ecosistema antes no afectado (Vangronsveld y Cunningham, 1998); citado en (González Chávez 2005). Una de las técnicas de mayor interés, para los procesos de remediación son la bio y fitorremediación (Sklandany y Metting 1993, Cunningham y leo, 1995); citado en (González Chávez 2005).

El uso de plantas y microorganismos para la remoción, contención o retención de contaminantes ambientales sin afectación o impacto medioambiental son considerados tecnologías biológicas (Bollag y Bollag 1995); citado en (González Chávez 2005). De hecho las estrategias de revegetación y estabilización de escombreras mineras más efectivas se han realizado con poblaciones de pseudometalófitas, utilizando varias especies de gramíneas de carácter exclusor (Johnson et al., 1994); citado en (Becerril et al. 2007).

Existen factores que nos ayudan a determinar la capacidad que tienen las plantas para absorber y traslocar metales del suelo a la planta (Lokeshwari y Chandrappa, 2006); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013), también conocidos como factor de bioacumulación, factor de traslocación, factor de enriquecimiento y persistencia; los cuales han sido utilizados en estudios de

ecotoxicología y química ambiental como marco de referencia (Lawson y Winchester, 1979; Poissant et al., 1994; Stiotyk et al., 2002); citado en (Del Águila Juárez, Lugo de la Fuente y Vaca Paulín 2005).

Esta investigación surge debido a la necesidad de mitigar la pérdida de la primera capa vegetal del suelo como consecuencia directa de la actividad minera que se realiza en la zona, la misma que se ha visto reflejada en la contaminación paisajística y socio económico de los moradores del cantón Cascales. Por lo tanto el buscar especies vegetales para la remoción de metales pesados y su potencial uso en zonas mineras, como criterio de restauración se convierte en un interés de esta investigación, evaluando la absorción y bioacumulación de metales pesados en las especies vegetales marandú (*Brachiara brizantha*) INIAP 711, pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) y flemingia negra (*Flemingia macrophylla*) introducidas en la Amazonía ecuatoriana en relaves mineros.

OBJETIVOS:

Objetivo General. -

- Determinar la absorción y bioacumulación de metales pesados de tres especies vegetales introducidas en la Amazonía ecuatoriana en relaves mineros.

Objetivos Específicos. -

- Identificar los metales pesados presentes en relaves mineros de la zona de Cascales de la provincia de Sucumbíos.
- Verificar el desarrollo morfológico y fisiológico de las tres especies vegetales cultivadas y acondicionadas en relaves mineros.
- Determinar la bioconcentración de metales pesados en las tres especies vegetales introducidas en la Amazonía ecuatoriana.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Marco conceptual

1.1.1 *El suelo*

El suelo es el producto de un proceso de cambio evolutivo desde que la roca se pone en contacto con la atmósfera hasta su desarrollo completo; por tanto el suelo es el resultado de los fenómenos físicos, físico-químicos y biológicos de intercambio que ahí se originan (Higueras y Oyarzun, 2004); citados en (Ballesteros 2011) (Berenguer 2017).

El suelo se forma por la interacción de los sistemas atmósfera, hidrosfera y biosfera sobre la superficie de la geosfera. Ocupa la interfase entre la geosfera y los demás sistemas, en la llamada Zona Crítica (National Research Council, 2001; Brantley et.al. 2007), la parte más dinámica de la superficie de la Tierra (Galán Huertos y Romero Baena 2008).

1.1.2 *Calidad del suelo*

La calidad de un suelo en la actualidad está definida en base la capacidad determinada que éste tiene para conservar la productividad de animales y plantas, mantener o mejorar la calidad del aire y agua; y aportar positivamente a la salud humana y su hábitat dentro de los límites permisibles.

Una de las características del suelo es su resiliencia, término que se refiere la capacidad para recuperar su forma inicial o de degradarse al ser sometido a ciertas actuaciones. (Doran y Parkin, 1994; Karlen y col., 1997; Doran y Zeiss, 2000); citados en (Berenguer 2017).

Tabla 1-1: Indicadores físicos, químicos y biológicos para controlar los cambios en el suelo

Propiedades	Propiedades Relación con la condición y función del suelo
Físicas	
Textura	Retención y transporte de agua y compuestos químicos; erosión del suelo
Profundidad del suelo	Estima la productividad potencial y la erosión
Infiltración y densidad aparente	Potencial de lavado; productividad y erosividad
Capacidad de retención de agua	Relación con la retención de agua, transporte y erosividad; humedad aprovechable, textura y materia orgánica
Químicas	
Materia orgánica (N y C total)	Define la fertilidad del suelo; estabilidad; erosión
pH	Define la actividad química y biológica
Conductividad eléctrica	Define la actividad vegetal y microbiana
Biológicas	
P, N y K extraíbles	Nutrientes disponibles para la planta, pérdida potencial de N; productividad e indicadores de la calidad ambiental
Biomasa microbiana (C y N)	Potencial microbiano catalítico y depósito para el C y N; cambios tempranos de los efectos del manejo sobre la materia orgánica
Respiración, humedad y temperatura	Mide la actividad microbiana-, estima la actividad de la biomasa
N potencialmente mineralizable	Productividad del suelo y suministro potencial de C

FUENTE: (Adaptado de Larson y Pierce, 1991; Doran y Parkin, 1994; Seybold et al., 1997); citados en (Berenguer 2017).

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

En la Tabla 1-1 surgen una serie de propiedades físicas, químicas y biológicas propuestas como indicadores de calidad del suelo en función de la escala espacial que realiza la evaluación del mismo (adaptado de Larson y Pierce, 1991; Doran y Parkin, 1994; Seybold et al., 1997); citados en (Berenguer 2017).

La evaluación de calidad de un suelo se lo realiza en base a la elaboración de índices de calidad los cuales miden las propiedades del suelo que intervienen en la capacidad de realizar funciones de producción agrícola o medioambiental (Arshad, 2002); citados en (Berenguer 2017).

Para que las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo sean consideradas indicadores de calidad deben cubrir las siguientes condiciones (Doran y Parkin, 1994; citados en (Berenguer 2017):

- a) Describir los procesos del ecosistema;
- b) Integrar propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo;
- c) Reflejar los atributos de sostenibilidad que se quieren medir;
- d) Ser sensitivas a variaciones de clima y manejo;
- e) Ser accesibles a muchos usuarios y aplicables a condiciones de campo;
- f) Ser reproducibles;
- g) Ser fáciles de entender;
- h) Ser sensitivas a los cambios en el suelo que ocurren como resultado de la degradación antropogénicas;
- i) Cuando sea posible, ser componentes de una base de datos del suelo ya existente.

1.1.3 Contaminación de suelos

• Contaminación

Se considera que un suelo contaminado es aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas han sido afectadas negativamente, a tal punto que sus concentraciones han excedido su capacidad de amortiguación y como resultado pasa de actuar como un sistema protector a ser la causa del problema (Barrio Vega [sin fecha]).

• Contaminación del suelo afectado por la minería

Como consecuencia de la actividad minera, los suelos tras una explotación contienen todo tipo de materiales residuales, escombros estériles, entre otros; lo que significa que las características de la cubierta vegetal han sido afectadas siendo más notables las siguientes (Cuevas 2010):

- a) Ausencia o baja presencia de la estructura edáfica
- b) Clase textural desequilibrada
- c) Ruptura de los ciclos biogeoquímicos
- d) Propiedades químicas anómalas
- e) Presencia de compuestos tóxicos
- f) Disminución o desequilibrio en el contenido de nutrientes fundamentales
- g) Baja profundidad efectiva
- h) Dificultad de enraizamiento
- i) Baja capacidad de cambio
- j) Baja retención de agua.

Tipos de contaminación de suelo

Con el pasar de los años la industrialización ha dado como consecuencia una sociedad que facilita la contaminación del agua, suelos y sedimentos. Los principales agentes causales de la contaminación del suelo son variados: entre ellos tenemos las emisiones acidas atmosféricas, el uso de agua de riego salina, los fitosanitarios y la actividad industrial y energética (García y Dorronsoro, 2005); citado en (Cuevas 2010).

Los metales pesados son unos de los mayores problemas ambientales que tenemos en el planeta su contaminación conlleva grandes consecuencias económicas y sanitarias. La mayoría de metales pesados en cantidades relativamente bajas, llegan a beneficiar al suelo en algunos casos pueden ser hasta imprescindible para los organismos vivos. Pero en cantidades que pasan el umbral son muy peligrosos ya que su degradación es muy lenta y difícil de eliminarlos (Millan et al., 2007); citado en (Cuevas 2010).

Esta persistencia, acumulación progresiva y/o transferencia a la cadena alimentaria supone una amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas, siendo este su mayor problema (Bech et al., 2002). Así por ejemplo se ha observado que el Zn tiene una permanencia de 70 a 510 años, el Cd de 13 a 1100 años y el Cu de 310 a 1500 años. Estos intervalos varían notablemente según los regímenes de humedad y temperatura del suelo (Cuevas 2010).

Bowen (1979) señala que en suelos templados la permanencia para el Cd es de 75 a 380 años, Hg 300 a 1000 años y Ag, Cu, Ni, Pb, Se y Zn 1000 a 3000 años. El incremento de los residuos durante las explotaciones mineras, entre ellos los materiales piríticos (Williamson, 1992), incrementa la concentración de los metales en los horizontes superficiales, pasando de ser microelementos a macroelementos del suelo (Cuevas 2010).

Al tener en el suelo una concentración elevada de metales pesados esto afecta a la biota debido a que dentro de la misma ocurren interacciones tanto molecular como celular y esto conlleva a la disminución de la calidad del suelo ya que inhibe la descomposición de la materia orgánica y los procesos de mineralización del N originando fuertes problemas en el desarrollo de la cubierta vegetal (García y Dorronsoro, 2002; Hall, 2002; Selim y Kingery 2003; Wong, 2003); citado en (Cuevas 2010).

Las extracciones mineras, causan el desequilibrio en la estructura edáfica debido a la no presencia de la capa superficial del suelo, es decir la pérdida o erosión de la cubierta vegetal (Wong, 2003), ausencia de materiales finos formadores de suelo, propiedades químicas anómalas, disminución o desequilibrio de los nutrientes fundamentales; ruptura de los ciclos biogeoquímicos, baja profundidad efectiva, dificultad de enraizamiento, baja capacidad de cambio, baja retención de agua y presencia de compuestos tóxicos (Wong, 1999 y García y Dorronsoro, 2002); citado en (Cuevas 2010).

1.1.4 Dinámica de los metales pesados en el suelo

Según García y Dorronsoro (2005), los metales pesados pueden seguir 4 diferentes vías (Cuevas 2010):

- a) Retención ya sea disueltos en la solución o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación.
- b) Absorción cuando son absorbidos por las plantas y con ello pasan a formar parte de las cadenas tróficas.
- c) Pasar a la atmósfera por volatilización.
- d) Movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas, López y Grau (2005) puntualizan que en el suelo podrían encontrarse los metales pesados en 6 compartimentos asociados a los constituyentes del suelo.
 - Dentro de las redes cristalinas de los minerales primarios y de los minerales que son producto de la alteración edafogénica.
 - Adsorbidos en las fases de hidróxido de hierro, aluminio y manganeso.
 - Conjuntamente con los residuos de los vegetales y animales procedente de la mineralización.
 - Incluidos en las macromoléculas orgánicas
 - En forma de ion que se encuentra asociados a la superficie de la materia orgánica y de las arcillas minerales.
 - En la solución del suelo que puede ser en estado soluble, coloide o particulada.

1.1.5 Factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de metales

Los principales factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de los metales pesados son (Cuevas 2010):

a) pH

Para establecer la movilidad de un catión es muy importante considerar el pH del suelo, una gran parte de metales pesados presentan fracciones más móviles en presencia de suelos ácidos es decir que aquellos iones se van a encontrar en mayor disponibilidad en el suelo. También podemos encontrar metales como molibdeno y selenio que su disponibilidad aumenta en presencia de suelos con pH básicos (Kabata- Pendias y Pendias, 2000; García y Dorronsoro, 2005); citado en (Cuevas 2010).

b) Condiciones redox

Este parámetro se lo considera importante debido a que es el causante de que el metal se encuentre en condiciones de oxidación o de reducción. Por ejemplo: En estado de reducción el hierro de valencia +3 se transforma en hierro valencia +2. Es por ello que las condiciones redox actúa indirectamente sobre la locomoción de los metales, presentando mayor solubilidad en condiciones reductoras. Un ejemplo son los hidróxidos de hierro y manganeso que no son estables en estado de reducción (García y Dorronsoro, 2005); citado en (Cuevas 2010).

c) Textura y estructura

Algunos autores relacionados con el tema (Alloway, 1995; López y Grau, 2005; (Pilon-Smits, 2005); citado en (Cuevas 2010) nos ofrecen sus criterios. La textura y estructura son dos parámetros son los que permiten la filtración, adsorción y la pérdida de los metales pesados en el suelo. Los suelos que dentro de su composición presenta cantidades altas de arcillas son favorables para la retención de metales pesados impidiendo con ello el paso hacia el nivel freático. Cada una de las especies minerales tiene unos determinados valores de superficie específica y descompensación eléctrica. Estas características se encuentran directamente ligada al poder de adsorción de estos minerales y la disminución por lixiviación. Ese hecho es de vital importancia puesto que gracias a este proceso de adsorción, los cationes pueden ser aprovechados para la cubierta vegetal.

En conclusión, los suelos donde predomina la arcilla son suelos que tienen mayor capacidad de retención de agua y contaminantes, es decir su el paso de contaminantes hacia los niveles freáticos es muy lento.

d) Materia orgánica

La materia orgánica tiene una gran importancia en todos los procesos de adsorción del suelo. Actúa como ligandos en los complejos de intercambio, mediante la cesión de electrones de ciertas moléculas a cationes metálicos, que aceptan estos electrones, formando los quelatos que pueden migrar con facilidad a lo largo del perfil (Pilon-Smits, 2005); citado en (Cuevas 2010).

Por lo tanto la presencia de materia orgánica en el suelo facilita la bioasimilación y solubilidad de metales pesados, una de las características de los metales pesados es que tienden a formar complejos organometálicos permitiendo potencializar su toxicidad y con ello proporciona una mayor solubilidad disponibilidad y dispersión (Adriano, 1986); citado en (Cuevas 2010).

e) Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La CIC se define como la cantidad de cationes reversiblemente adsorbidos (expresados como moles de carga positiva) por unidad de peso del mineral y está muy condicionada por la cantidad y tipo de arcilla y la materia orgánica. Principalmente para iones alcalinos y alcalinotérreos, como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , los cuales debido a su tamaño y baja carga, precipitan con mucha dificultad, lo contrario pasa con los iones metálicos de transición como Al^{3+} y $\text{Fe}^{2+/3+}$, los cuales forman fases sólidas, como óxidos o aluminosilicatos (Prabhakaran y Cottenie, 1971); citado en (Cuevas 2010).

f) Óxidos e hidróxidos de Fe y Mn

Estos compuestos los encontramos muy activos ya que están diseminados en la masa del suelo, son muy importantes en la retención de metales pesados en especial los divalentes como son cobre y plomo. Y en menores cantidades cromo cobalto zinc y níquel (Doménech, 1995); citado en (Cuevas 2010).

1.1.6 Metales pesados

Actualmente la industria minera ha incrementado su atracción en los elementos metálicos ya que la mayor parte de éstos son de interés debido a su beneficio económico. Todos los metales y metaloides cuyo peso atómico sea mayor a 6g/cm^3 , son considerados con el término metal pesado, con excepción del As, B y Se (Mendoza 2014).

Los metales pesados se dividen en macro elementos, elementos traza y ultra traza, mismos que son denominados como oligoelementos. A continuación se detallan los bioelementos, es decir los elementos químicos que se encuentran en los seres vivos y se clasifican en (Mendoza 2014):

- Macro elementos o elementos abundantes: oxígeno, carbono, hidrógeno, nitrógeno, calcio, fósforo, potasio, azufre, sodio, cloro, hierro, magnesio.
- Elementos traza: flúor, zinc, cobre, silicio, vanadio, estaño, selenio, manganeso, yodo, níquel, molibdeno, cromo, cobalto.
- Elementos ultra traza (oligoelementos): Estos elementos demandan una dosis menor a 1 mg por día. La presencia de dichos elementos no es precisamente necesaria, excepto para el yodo y el molibdeno (Hee park y Lamb, 2011).

En el suelo podemos encontrar diecisiete elementos traza que se consideran muy tóxicos debido a que sus concentraciones superan los niveles de toxicidad permisibles, estos son: Ag, As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pd, Pt, Sb Sn, Te, Tl y Zn (Mendoza 2014).

Los metales pesados tienden a incrementar su concentración ya que se bioacumulan, motivo por el cual se los considera tóxicos. La bioacumulación se define como el incremento de un producto químico en un organismo biológico dentro de un determinado plazo, de forma que esta concentración resulta ser más elevada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente (Mendoza 2014).

1.1.7 Tolerancia de las plantas hacia los metales pesados

Es la capacidad que presentan algunas plantas de subsistir a la presencia de metales pesados que se encuentran en el suelo, esto se debe a la interacción entre el genotipo y su ambiente (Macnair, M2002), la cual determina su sobrevivencia (Kuiper, 1984), citado en (MEDINA y MONTALVO 2013). La mayoría de estos mecanismos ocurren internamente en las plantas que crecen en suelos metalíferos debido a sus adaptaciones fisiológicas y bioquímicas (Baker, A, M, J; 1987). Esto se debe al desarrollo de innumerables estrategias establecidas en mecanismos de hiperacumulación en forma no toxica o excluirlas fuera de sus tejidos (Baker 1981).

Un buen sistema de fitorremediación debe tener plantas que sean tolerantes a contaminantes ya sean líquidos o sólidos y habilidad de acumulación (adsorción, detoxificación, y secuestro). Y ser especialista en sobrevivir en suelos que contengan más de un metal en el medio del crecimiento (MEDINA y MONTALVO 2013).

1.1.8 Acumulación de metales pesados en las plantas

Existen dos estrategias de las especies vegetales para soportar la presencia de metales pesados en el suelo (MEDINA y MONTALVO 2013):

- *Estrategia de exclusión.*- Esto lo hacen restringiendo su absorción y/o translocación hacia las hojas.
- *Estrategia acumuladora.*- Esta estrategia absorbe y acumula los contaminantes en su biomasa aérea. Esto requiere tener una fisionomía muy especializada según Baker y Walker, 1990, (MEDINA y MONTALVO 2013).

Existen casos en el que el metal llega a sobrepasar el 1 % de materia seca de la planta a estas especies se las denomina híper acumuladoras este términos se utilizó por primera vez por Lee, Reeves y Jaffré (1997); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

1.1.9 Mecanismo de respuesta de los vegetales a la presencia de metales pesados

Debido a la presencia de metales pesados, las plantas generan incomparables mecanismos de respuesta, los más concurrentes son (Ballesteros 2011):

- Reducción,
- Exclusión,
- Solubilización,
- Mineralización,
- Acumulación,
- Translocación,
- Quelación.

Algunos de estos son llamados activos, ya que demandan energía metabólica para efectuarse; mientras que otros son pasivos como por ejemplo la absorción por exclusión.

La translocación, algunas plantas tienen la característica de traslocar o a su vez transfieren el exceso de metal hacia las hojas viejas, mientras que otras delimitan el transporte de la raíz al tallo (Reed, 1990); citado en (Ballesteros 2011).

La vacuola tiene una labor importante en el almacenamiento de metales. Los iones metálicos se transportan de manera activa al interior del tonoplasto como iones libres o complejos metal-molécula quelante (Moreno, 1999); citado en (Ballesteros 2011).

La pared celular vincula la disminución de permeabilidad de la membrana celular, y en algunas ocasiones activa la extrusión, al absorción por orgánulos y vacuolas o complejación con agentes quelante tales como las proteínas, por ejemplo, metalotioneínas y fitoquelatinas (Rausser, 1999); citado en (Ballesteros 2011).

Algunas especies vegetativas tienen la característica de ser “híper acumuladoras” es decir, poseen la capacidad de acumular en su biomasa mayores concentraciones de contaminantes que otras, a esta habilidad se la conoce como bioacumulación y/o absorción; los cuales son procesos de detoxificación (Black, 1995); citado en (Ballesteros 2011).

Se considera que existe híper acumulación en las plantas, cuando la concentración del metal acumulado en los tejidos de las plantas se encuentra en el rango de 0,1 a 1% del peso seco de la planta, este porcentaje es particular para diferentes metales. Hasta la fecha, han sido reportadas más de 430 especies como híper acumuladoras de metales pesados desde hierbas anuales hasta arbustos perennes y árboles (Mac, 2002); citado en (Ballesteros 2011).

Híper acumuladora es una planta que contiene mayor concentración de metales pesados en su biomasa de la que existe en el suelo o agua en la que se encuentre e híper tolerante es que posee mecanismos internos de detoxificación que le permiten secuestrar metales y metaloides en la vacuola (McGrath y Zhao, 2013); citado en (Ballesteros 2011).

Las estrategias para evitar que los metales pesados aumenten en las plantas son diversas. Extracelularmente se incluyen las micorrizas, la pared celular y exudados extracelulares (Tomatada, 2001); citado en (Ballesteros 2011).

La tolerancia puede además involucrar la membrana plasmática y el citosol. Dentro del protoplasto existe una variedad mecanismos potenciales, por ejemplo, para la reparación de los daños de estrés se ha involucrado a proteínas de choque térmico o a las metalotioneínas, así como la quelación de metales por ácidos orgánicos, aminoácidos o péptidos, o su compartimentalización a procesos metabólicos para el transporte dentro de la vacuola (Tomatada, 2001); citado en (Ballesteros 2011).

1.1.10 Explotaciones mineras

Las actividades efectuadas por la industria minera han ocasionado impactos ambientales significativos que implican la pérdida de suelos naturales y creación de nuevos suelos, que muestran restricciones químicas, físicas y biológicas. Entre las consecuencias de estos procesos tenemos el cambio de la estructura y textura del suelo, pérdida de los horizontes superficiales biológicamente activos, acidificación asociada a los procesos de oxidación, disminución de la capacidad de cambio y de la retención de agua, dificultad de enraizamiento y obstaculiza la reincorporación vegetal (Macías, 1996); citado en (Ortiz et al. 2007).

La zona minera ubicada en el cantón Cáscales de la provincia de Sucumbíos, se encuentra afectada significativamente por las actividades de la industria minera, es por ello la necesidad de mitigar la pérdida de la primera capa vegetal del suelo, la misma que se ha visto reflejada en la contaminación paisajística y socio económico de los moradores del cantón.

1.1.11 Tecnologías tradicionales para la recuperación de suelos contaminados

Usualmente para el tratamiento y recuperación de suelos que contengan un alto porcentaje de contaminante tóxicos se utiliza métodos de ingeniería en especial los tratamientos que se incorporan fosfatos que tienen un buen potencial de adsorción (zeolitas, amasilicatos, etc.) adición de cal y agentes quelante (Vangronsveld y Cunnigham,1998); citado en (González Chávez 2005).

El uso de plantas y microorganismos para la remoción, contención o retención de contaminantes ambientales sin afectación o impacto medioambiental son considerados tecnologías biológicas. Estas tecnologías sean utilizado para tratar contaminantes del agua y suelo como: hidrocarburos, plaguicidas, radioactividad, y contaminantes orgánicos (Bollag y Bollag 1995); citado en (González Chávez 2005).

Actualmente las alternativas de mayor interés para los procesos de remediación son la bio y fitorremediación debido varios factores como son (sklandany y Metting1993, Cunningham y leo, 1995); citado en (González Chávez 2005):

- Económicas
- Capacidad de tolerancia absorción, acumulación, y degradación de contaminantes
- Son procesos naturales es por ello que su impacto es mínimo

1.1.12 Fitocorrección de suelos contaminados

Agrupar un número de técnicas que se basan en la utilización de vegetales y microorganismos para la remediación de contaminantes. Es decir que los agentes extraños que se encuentran en el suelo podrían ser estabilizados y degradados en la rizosfera y acumulado o degradado dentro de la planta o volatilizado (Fuente: Pilon-Smits et al ,2005); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Los diferentes mecanismos de fitocorrección se describen a continuación:

Fitoextracción de metales pesados

Su aplicación se basa en el uso de plantas que poseen una capacidad natural por encima de lo usual para absorber y concentrar en sus partes aéreas determinados metales pesados (principalmente As, Cd, Co, Ni, Se o Zn) sin desarrollar síntomas de toxicidad (MEDINA y MONTALVO 2013).

Fitoestabilización de metales pesados

Las plantas idóneas para su uso en la Fitoestabilización son aquellas tolerantes a altas concentraciones de metales pero que no absorben ni movilizan los contaminantes, limitando la absorción por las raíces y/o evitando su translocación a la parte aérea ($[\text{raíz}]:[\text{suelo}] < 1$ y/o $[\text{hojas}]:[\text{raíz}] < 1$) (MEDINA y MONTALVO 2013).

Fitovolatilización de metales pesados

Es el proceso por el cual las plantas y la actividad microbiana asociada, a través de enzimas especializados, pueden transformar, degradar y finalmente volatilizar los contaminantes desde el suelo. La volatilización puede producirse tanto desde el sistema radicular como desde la parte superficial del suelo (Torres y Zuluaga, 2009); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Fitoestimulación o rizodegradación de metales pesados

Es el proceso por medio del cual las raíces de las plantas, su microflora asociada y/o los productos excretados destruyen el contaminante en la zona radicular (Torres et al., 2009); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Fitodegradación de metales pesados

Es el proceso mediante el cual las plantas toman el contaminante y lo metabolizan transformándolo en un material sin riesgos para el medio natural (Torres et al., 2009) ; citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Rizofiltración de metales pesados

Se basa en que algunas plantas acuáticas, de humedales, algas, bacterias y hongos, resultan ser buenos biosorbentes de metales mediante su absorción a partir de aguas contaminadas a través de sus raíces (Ej. Typha, Phragmites); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

A principios de los 90, se abrieron nuevas perspectivas con el uso también de plantas terrestres que se habían desarrollado en cultivos hidropónicos y que permitía unos sistemas radiculares más extensos para “filtrar”, adsorber y absorber metales desde medios acuáticos (Raskin et al., 1994; Dushenkov, Nanda, Motto y Raskin., 1995; Dushenkov & Kapulnik, 2000); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

1.1.13 Especies vegetales

Marandú (Brachiaria brizantha) INIAP 711

Brachiaria brizantha, conocido como marandú, es una gramínea perenne originaria de África tropical, introducida y adaptada hace 18 años a la Amazonía ecuatoriana. De crecimiento erecto y suberecto, produce buena cantidad de raíces profundas de color blanco amarillento y de consistencia blanda (González et al. [sin fecha]).

Características agronómicas:

Los nudos de los tallos son prominentes, glabros y poco radicantes cuando están en contacto con el suelo. Las hojas son glabras o pilosas, linear lanceoladas de 15 a 40 cm. de longitud y de 6 a 15 mm. de ancho. Su altura va de 1 a 1,5 m. presenta rizomas cortos de 30 a 40 mm. La inflorescencia está formada de 3 a 4 racimos de 5 a 10 cm. de largo (CISNEROS, M., 1994); citado en (González et al. [sin fecha]).

• *Adaptación:*

Se adapta apropiadamente a regiones tropicales con rango que va desde los 250 a 1200 msnm, temperaturas de 18 a 25 OC y precipitaciones de 800 a 4000 mm al año. Se desarrolla bien en diferentes tipos de suelos, particularmente en suelos ácidos, de baja fertilidad y con

buen drenaje; además, tolera sequías no prolongadas (CISNEROS, M., 1994); citado en (González et al. [sin fecha]).

- *Siembra:*

Se propaga por las dos vías: tanto por material vegetativo, como por semilla sexual. Cuando se emplea material vegetativo se requiere de 12 a 15 m³/ha de cepas, pudiendo sembrarse a distancias de 0,80 y 1 m en cuadro, dependiendo de la disponibilidad de material, se obtiene un rápido establecimiento; cuando se utilizan distancias superiores a 1 ó 2 m en cuadro, requiriendo un mayor número de controles de maleza (CATIE, 1984); citado en (González et al., no date).

Pasto elefante (Pennisetum purpureum)

El *Pennisetum purpureum* es una gramínea macollosa que puede llegar a medir 3 metros de altura, las hojas pueden medir 70 cm de largo por 3 de ancho y presentan superficie y bordes rugosos. El nombre hierba de elefante deriva del hecho de que es el alimento favorito de estos animales (Bemhaja 2000).

- *Características Agronómicas:*

La inflorescencia es en forma de panícula cilíndrica, larga y pubescente. En zonas altas el corte se puede realizar cada 120 días, pero en zonas bajas cada 45 días. Son plantas perennes cespitosas; con tallos de hasta 800 cm de largo y 10–25 mm de ancho, erectos, en general esparcidamente ramificados, las bases decumbentes; entrenudos sólidos, generalmente glabros, nudos glabros o híspidos (Bemhaja 2000).

Vainas ligeramente carinadas, glabras o hirsutas; lígula 1.5–3.5 mm de largo, una membrana ciliada; láminas hasta 125 cm de largo y 40 mm de ancho, aplanadas, glabras o pilosas. Inflorescencia compuesta, las espigas terminales y axilares, espigas hasta 30 cm de largo y 10–20 mm de ancho, amarillas o raramente purpúreas, raquis estriado, piloso, recto, con obvias bases de los estípites (Bemhaja 2000).

Flemingia negra (Flemingia macrophylla)

Originaria de Asia tropical, de Ceilán hasta Malasia.

- *Características Botánicas:*

Arbusto leñoso, de 1,20 a 2 m. de alto, con hojas compuestas de 3 folíolos grandes (10, 15 cm de largo). Las legumbres aparecen en racimos y contienen 2 semillas negras redondas. El sistema radicular llega a 2,50 m. de profundidad (PROGRAMA NACIONAL DE PASTOS Y FORRAJES, ICA); citado en (Vera y Riera [sin fecha]).

- *Uso como abono verde:*

Flemingia macrophylla es excelente para barbecho de larga duración, parcelas de corte y barreras vivas. Puede podarse 2 a 4 veces al año según el clima; la regeneración es excelente. El sistema radicular profundo mejora la aireación del suelo; se utiliza mezclando con hierbas para forraje de corte, puede servir de rompe viento y para cercas vivas. Se siembra con leguminosas trepadoras como soporte vivo. (PROGRAMA NACIONAL DE PASTOS Y FORRAJES, ICA); citado en (Vera y Riera [sin fecha]).

- *Clima y suelos*

Bien adaptada a las zonas húmedas (lluvia anual a partir de 1.100 mm.), a los suelos ácidos y agotados por la sobre explotación (PROGRAMA NACIONAL DE PASTOS Y FORRAJES, ICA); citado en (Vera y Riera [sin fecha]).

1.1.14 Factores de concentración

Existen factores que nos ayudan a determinar la capacidad que tienen las plantas para absorber y traslocar metales del suelo a la parte aérea de la planta (Lokeshwari y Chandrappa, 2006); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Factor de bioconcentración (BCF)

También conocido como Índice de bioconcentración (BF), Coeficiente de absorción biológica (BAC), Coeficiente de transferencia (TC), Factor de concentración (Cf) o Coeficiente de bioacumulación (BAC); se utiliza para medir la capacidad de captación de un metal por una planta (raíz y parte aérea) con relación a su concentración en el suelo (MEDINA y MONTALVO 2013).

Para las plantas, el BCF se utiliza como una medida de la eficiencia de acumulación de metales en biomasa, donde valores > 1 indican que las especies son potencialmente híper acumuladora (Audet y Charest, 2007) y aquellas especies exclusoras poseen BCF menores que 1, tanto menores cuanto mayor es su capacidad de exclusión. Existen dos factores de bioconcentración que mencionamos a continuación (MEDINA y MONTALVO 2013):

- *Factor de bioconcentración en la raíz de la planta.*

También conocida como Factor de concentración biológica (BCF) o Root accumulation factor (RAF). Se calcula como la relación entre la concentración de metales en la raíz de la planta respecto a la concentración de metales en el suelo (Yoon, 2006); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

- *Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta.*

También conocida como Factor de bioacumulación (BAF), Coeficiente de acumulación biológica (BAC), Factor de remediación (RC) o Shoot accumulation factor (SAF). Es la proporción del elemento contenido en la parte aérea de la planta con respecto al suelo (Vyslouzilova, 2003); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Factor de traslocación (TF)

Es el cociente entre la concentración del metal en los órganos aéreos y raíz (Olivares et al., 2009). Factores de traslocación mayores a 1 sugieren gran capacidad para transportar metales desde las raíces a los vástagos, explicada en su mayor parte por eficientes sistemas de transporte de metales (Zhao, 2002) y, probablemente, por secuestro de metales en las vacuolas de las hojas y en el apoplasto (Lasat, 2000); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

De acuerdo con Deng (2004) y con Audet y Charest (2007), un valor del Factor de Traslocación mayor a 1 indica una eficiente traslocación del metal a brotes, por lo que la planta puede usarse con fines de fitoextracción. Si por el contrario, dicho valor es menor a 1, la traslocación del metal es baja, por lo que éste es retenido principalmente en las raíces y puede usarse para Fitoestabilización (MEDINA y MONTALVO 2013).

Factor de enriquecimiento

El factor de enriquecimiento (FE) ha sido utilizado en estudios de ecotoxicología y química ambiental como marco de referencia. Considera los elementos más abundantes de la corteza terrestre tales como Al, Si y Fe (Lawson y Winchester, 1979; Poissant et al., 1994; Stiotyk et al., 2002); citado en (Del Águila Juárez, Lugo de la Fuente y Vaca Paulin 2005).

Lawson y Winchester (1979); citado en (Del Águila Juárez, Lugo de la Fuente y Vaca Paulin 2005) establecen una escala para determinar cuál es el origen del elemento X en estudio; en la Tabla 1-2 presenta las características de cada intervalo del FE:

Tabla 1-2: Clases de factores de enriquecimiento de un metal pesado

Clases de FE	Origen del elemento X (metal pesado)
1 - 10	De la roca madre
10 - 500	Moderadamente enriquecido, e indica otra fuente de enriquecimiento adicional a la roca madre
>500	Indica un alto enriquecimiento y muestra que existe una grave contaminación de origen antropogénico

Fuente: Lawson y Winchester (1979); citado en (Del Águila Juárez, Lugo de la Fuente y Vaca Paulin 2005)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Persistencia

Tiempo de duración del efecto pernicioso en el suelo, es decir período de actividad del contaminante (Ortiz et al. 2007).

1.2 Marco normativo

1.2.1 Constitución de la república del Ecuador («CONSTITUCION DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR 2008» 2011) *se tiene:*

TITULO II

DERECHOS

Capítulo segundo: Derechos del buen vivir

Sección segunda: Ambiente sano

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*.

Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Capítulo séptimo: Derechos de la naturaleza

Art. 71.- La naturaleza o Pacha Mama, donde se reproduce y realiza la vida, tiene derecho a que se respete integralmente su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos.

Toda persona, comunidad, pueblo o nacionalidad podrá exigir a la autoridad pública el cumplimiento de los derechos de la naturaleza. Para aplicar e interpretar estos derechos se observarán los principios establecidos en la Constitución, en lo que proceda.

El Estado incentivará a las personas naturales y jurídicas, y a los colectivos, para que protejan la naturaleza, y promoverá el respeto a todos los elementos que forman un ecosistema.

Art. 72.- La naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el Estado y las personas naturales o jurídicas de indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados.

En los casos de impacto ambiental grave o permanente, incluidos los ocasionados por la explotación de los recursos naturales no renovables, el Estado establecerá los mecanismos más eficaces para alcanzar la restauración, y adoptará las medidas adecuadas para eliminar o mitigar las consecuencias ambientales nocivas.

TITULO VII

RÉGIMEN DEL BUEN VIVIR

Capítulo segundo: Biodiversidad y recursos naturales

Sección quinta: Suelo

Art. 409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su protección y uso sustentable que prevenga su degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión.

En áreas afectadas por procesos de degradación y desertificación, el Estado desarrollará y estimulará proyectos de forestación, reforestación y revegetación que eviten el monocultivo y utilicen, de manera preferente, especies nativas y adaptadas a la zona.

Art. 410.- El Estado brindará a los agricultores y a las comunidades rurales apoyo para la conservación y restauración de los suelos, así como para el desarrollo de prácticas agrícolas que los protejan y promuevan la soberanía alimentaria.

1.2.2 Ley de minería, («Ley de Minería» 2009) *se tiene:*

Última modificación: 20-dic-2014 Estado: Vigente

Art. 70.- Resarcimiento de daños y perjuicios.- Los titulares de concesiones y permisos mineros están obligados a ejecutar sus labores con métodos y técnicas que minimicen los daños al suelo, al medio ambiente, al patrimonio natural o cultural, a las concesiones colindantes, a terceros y, en todo caso, a resarcir cualquier daño o perjuicio que causen en la realización de sus trabajos.

La inobservancia de los métodos y técnicas a que se refiere el inciso anterior se considerará como causal de suspensión de las actividades mineras; además de las sanciones correspondientes.

Capítulo II: De la Preservación del medio Ambiente

Art. 80.- Revegetación y Reforestación. - Si la actividad minera requiere de trabajos a que obliguen al retiro de la capa vegetal y la tala de árboles, será obligación del titular del derecho minero proceder a la revegetación y reforestación de dicha zona preferentemente con especies nativas, conforme lo establecido en la normativa ambiental y al plan de manejo ambiental.

Art. 85.- Cierre de Operaciones Mineras. - Los titulares de concesiones mineras deberán incluir en sus programas anuales de actividades referentes al plan de manejo ambiental, información de las inversiones y actividades para el cierre o abandono parcial o total de operaciones y para la rehabilitación del área afectada por las actividades mineras de explotación, beneficio, fundición o refinación.

Asimismo, en un plazo no inferior a dos años previo al cierre o abandono total de operaciones para las actividades mineras de explotación, beneficio, fundición o refinación, el

concesionario minero deberá presentar ante el Ministerio del Ambiente, para su aprobación, un Plan de Cierre de Operaciones que incluya la recuperación del sector o área, un plan de verificación de su cumplimiento, los impactos sociales y su plan de compensación y las garantías indicadas en la normativa ambiental vigente; así como, un plan de incorporación a nuevas formas de desarrollo económico.

1.2.3 Acuerdo Ministerial N° 028. («NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL DEL RECURSO SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN PARA SUELOS CONTAMINADOS» 2015) *se tiene:*

(Anexo 2, Libro VI de la Calidad Ambiental, del Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente).

4.2 Criterios de Calidad del Suelo y Criterios de Remediación

4.2.1 Criterios de Calidad del Suelo

Los criterios de calidad, son valores de fondo aproximados o límites analíticos de detección para un contaminante en el suelo. Para los propósitos de esta Norma, los valores de fondo se refieren a los niveles ambientales representativos para un contaminante en el suelo. Los valores pueden reflejar las variaciones geológicas naturales de áreas no desarrolladas o libres de la influencia de actividades industriales o urbanas generalizadas. Los criterios de calidad de un suelo se presentan a continuación:

Tabla 1-3: Criterios de calidad de suelo

Sustancia	Unidades (Concentración en Peso Seco)	Suelo
Parámetros Generales		
Conductividad	mmhos/cm	2
pH		6 a 8
Relación de Adsorción de Sodio (Índice SAR)		4*
Parámetros Inorgánicos		
Arsénico (inorgánico)	mg/kg	5
Azufre (elemental)	mg/kg	250
Bario	mg/kg	200
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	1
Cadmio	mg/kg	0.5

Cobalto	mg/kg	10
Cobre	mg/kg	30
Cromo Total	mg/kg	20
Cromo VI	mg/kg	2.5
Cianuro (libre)	mg/kg	0.25
Estaño	mg/kg	5
Flúor (total)	mg/kg	200
Mercurio	mg/kg	0.1
Molibdeno	mg/kg	2
Níquel	mg/kg	20
Plomo	mg/kg	25
Selenio	mg/kg	1
Vanadio	mg/kg	25
Zinc	mg/kg	60
Parámetros Orgánicos		
Benceno	mg/kg	0.05
Clorobenceno	mg/kg	0.1
Etilbenceno	mg/kg	0.1
Estireno	mg/kg	0.1
Tolueno	mg/kg	0.1
Xileno	mg/kg	0.1
PCBs	mg/kg	0.1
Clorinados Alifáticos (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorobencenos (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hexaclorobenceno	mg/kg	0.1
Hexaclorociclohexano	mg/kg	0.01
Fenólicos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

*: El valor numérico del Índice de Adsorción de Sodio (SAR) es la concentración requerida para que un suelo produzca todo tipo de cultivos.

FUENTE: («NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL DEL RECURSO SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN PARA SUELOS CONTAMINADOS» 2015).

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

4.3 De las actividades que degradan la calidad del suelo

Las personas naturales o jurídicas públicas o privadas dedicadas a la comercialización, almacenamiento y/o producción de químicos, hidroelectricidad, exploración y explotación hidrocarburífera, minera, florícola, pecuaria, agrícola y otras, tomarán todas la medidas pertinentes a fin de que el uso de su materia prima, insumos y/o descargas provenientes

de sus sistemas de producción, comercialización y/o tratamiento, no causen daños físicos, químicos o biológicos a los suelos.

Suelos contaminados

Los causantes y/o responsables por acción u omisión de contaminación al recurso suelo, por derrames, vertidos, fugas, almacenamiento o abandono de materiales peligrosos, deben proceder a la reparación de la zona afectada, considerando para el efecto los criterios de remediación de suelos contaminados que se encuentran en la presente norma.

De la toma de muestras para caracterización de suelos

Para áreas con tipo de suelo homogéneo se tomará una muestra compuesta por hectárea, formada por 15 a 20 submuestras, cada una con un peso no inferior a 0.5 kg tomadas a una profundidad entre 0 a 30 cm, las submuestras serán mezcladas y homogenizadas para obtener una muestra compuesta representativa del suelo, de la cual se tomará un peso de entre 0.5 y 1.0 kg, que servirá para realizar los análisis requeridos.

Para proyectos cuya superficie sea menor a 1 ha, las muestras serán simples, y para superficies mayores a 1 ha serán muestras compuestas.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Tipo de Estudio

Se desarrolló un diseño experimental, descriptivo ya que se estudian tres tipos de tratamientos dando como resultado un amplio banco de datos y correlacional debido a que las interacciones de estas variables determinarán la evolución del fenómeno de estudio.

2.2 Modelo Experimental

2.2.1 *Recolección de relave minero.*

La mina “Duvino” se encuentra en una superficie irregular, rodeada de una densa vegetación. La recolección de los 300 kilogramos de relave minero se obtuvo directamente del lugar donde se realizaba la deposición de los mismos. Posteriormente esta muestra se trasladó a la ciudad de Orellana, para realizar su caracterización.

2.2.2 *Selección y recolección de las muestras de relave minero y sustrato*

La selección se la hizo mediante el método de cuarteo que consistió en colocar sobre un piso de cemento el relave minero donde se mezcló tirando de las esquinas opuestas, alternando las diagonales. Luego se dividió en cuatro partes, de las cuales se guardó una, se volvió a mezclar y se repitió el cuarteo hasta que se llegó al peso final de 1 kg.

Se etiquetó la muestra, para ser enviada al laboratorio CESTTA para su respectivo análisis. Una vez obtenida la caracterización de todos los metales presentes en el relave minero se realizó la selección de los 10 elementos con concentraciones significativas por medio del diagrama de Pareto.

Para la recolección del sustrato se hizo una mezcla entre el relave minero, suelo franco, y humus en relación 50:25:25 respectivamente donde se obtuvo 1 Kg de muestra mediante el método de cuarteo para su caracterización en el laboratorio LABSU.

2.2.3 Preparación de los bioensayos

La parte experimental se realizó en un área de fácil acceso ubicado en la provincia de Orellana, km 1 vía a Loreto de aproximadamente 100 m²; donde se construyó el vivero de 6x4 m² mediante el uso de herramientas como: pala, cortadora, azadón, rastrillo, martillo y clavos. El lugar estuvo cubierto con marquesina para facilitar las labores culturales dentro del vivero; ya que ésta permite el ingreso de los rayos solares de manera similar al de la intemperie.

En la superficie del suelo se instaló 3 columnas de 10 filas, a cada columna se le aplicó un tratamiento diferente con la especie vegetal correspondiente.

Mantenimiento de las unidades experimentales

Para el mantenimiento de las unidades experimentales se efectuó labores culturales y pre culturales, tales como:

- Poda de maleza: Se la realizó semanalmente, una vez cortada se la colocaba dentro de misma funda de polietileno de cada plántula.
- Riego: Se humedeció las plántulas (Agua de lluvia) cada 48 horas por las mañanas, con el objetivo de evitar la filtración o lavado de metales pesados hacia el suelo.
- Recolección de hojas caídas: Las hojas secas o amarillentas se las volvió a ubicar dentro de las fundas de polietileno al igual que la maleza, esta labor se lo realizó diariamente.

2.2.4 Selección y siembra de especies vegetativas en las unidades experimentales

Para la selección de las especies vegetativas se tomó en cuenta su capacidad de adaptación a las condiciones climáticas de la región y a suelos particularmente con pH ácido, sus características agronómicas y su periodo de siembra. Las especies vegetativas seleccionadas fueron: Marandú (*Brachiara brizantha*) INIAP 711, pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) y flemingia negra (*Flemingia macrophylla*).

- La identificación de las especies se llevó a cabo en base a la señalización y observación visual de las mismas en el Banco de Germoplasma de Especie Forrajeras en la Estación Experimental INIAP.
- Se recolectaron diez ejemplares de cada especie vegetativa, las herramientas usadas fueron el pico y la pala con mucho cuidado de no dañar o cortar las raíces cada ejemplar.
- A los dos pastos (*Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha*) se procedió a separar la raíz de la parte aérea, usando una tijera podadora; la especie *Flemingia macrophylla* teniendo aproximadamente dos meses de germinación cada plántula.
- Las plántulas fueron sembradas en las fundas de polietileno una vez ya colocados los 10 kilogramos de mezcla de suelo.

2.2.5 Registro de crecimiento de las plantas

Una vez sembradas las plantas, se llevó un registro de crecimiento en el cual se midió semanalmente sus características morfológicas como: hojas nuevas, hojas caídas, altura, nudos y ramas; registrándolas para su posterior análisis estadístico.

2.2.6 Selección, toma de muestras y análisis de las unidades experimentales post cosecha.

- Las muestras de las plantas fueron seleccionadas al azar y recolectadas de las mismas áreas de muestreo establecidas para los suelos.
- Las muestras de raíz, tallo y hojas se tomaron halando con precaución, para evitar dañar las raíces; de igual manera para este proceso se utilizó una tijera podadora.
- Se tomaron 4 muestras de plantas por cada especie vegetativa, 4 muestras de la parte aérea, 4 muestras de la raíz y 4 muestras del suelo de la misma planta.

Selección y análisis de metales pesados

El análisis se desarrolló en laboratorio LABSU para determinar los elementos metálicos mediante la metodología de absorción atómica, siguiendo los protocolos del laboratorio (DETERMINACIÓN DE METALES POR ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA PEE-LABSU-06) según el sustrato a ser analizado se tiene:

- *Resumen del método*

En aspiración directa por Absorción Atómica, una muestra es aspirada y atomizada en una flama. Un rayo de luz de la lámpara de cátodo hueco (o una lámpara de descarga de electrones) pasa

directamente a través de la llama dentro de un monocromador, y llega a un detector que mide la cantidad de luz absorbida. La absorción depende de la presencia de átomos libres no excitados en la llama. Debido a que la longitud de onda del rayo de luz es característica del metal que está siendo determinado, la energía de la luz absorbida por la llama es una medición de la concentración del metal en la muestra. Este es el principio básico de la Espectrometría de Absorción atómica.

• *Equipos, Materiales y Reactivos*

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica. Código: EI/71.
- Lámparas de Cátodo Hueco multielementos o simple elemento.
- Balones Volumétricos clase A de 100 mL, Pipetas Volumétricas de 5 y 10 mL.
- Balanza analítica capaz de pesar a partir de 0.001 g.
- Bloque de digestión equipado con extractor de vapores y regulador de temperatura y tiempo.
- Tubos de digestión de 100 mL.
- Embudos de filtración plásticos.
- Papel filtro cuantitativo y semicuantitativo de filtración lenta.
- Papel filtro cuantitativo 0.45 μm o su equivalente.
- Cristalería: Toda la cristalería, contenedores de polipropileno o teflón, vasos de precipitados y pipetas, podrían ser lavados en la siguiente secuencia: Ácido clorhídrico 1:1 v/v, agua de grifo, ácido nítrico 1:1 v/v, agua de grifo, detergente, grifo de agua, agua destilada.

• *Reactivos*

Los Reactivos de grado analítico o grado químico de trazas pueden ser empleados en todos los ensayos. A menos que se indique, es entendido que todos los reactivos mostrarán las especificaciones requeridas.

- Agua destilada de conductividad inferior a 3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y pH 7.
- Ácido nítrico concentrado HNO_3 , 65% calidad ISO o equivalente: A este se le puede determinar los niveles de impurezas. Si el blanco es menor al límite de detección (MDL, siglas en inglés), el ácido puede usarse.
- Ácido clorhídrico (1:1 v/v), HCl : Preparado a partir de agua destilada y ácido clorhídrico concentrado. A este se le puede determinar los niveles de impurezas. Si el blanco es menor al Límite de detección, el ácido puede usarse.

- Peróxido de hidrógeno (30%), H₂O₂: El oxidante será analizado para determinar los niveles de impurezas. Si el blanco es menor al MDL, el peróxido puede usarse.
 - Combustible y oxidante: Acetileno de Alta pureza es generalmente aceptable. El aire puede ser suministrado de una línea del compresor, o un cilindro de aire comprimido al cual se le debe limpiar y secar. El óxido nitroso es también requerido para ciertas determinaciones.
 - Soluciones estándar de metales: Las soluciones estándar de reserva son preparadas a partir de reactivos de grado analítico de alta pureza, sean metales, óxidos, sales o sales no higroscópicas usando agua reactiva y ácido nítrico o ácido clorhídrico. Las soluciones estándar también están disponibles comercialmente ya preparadas, los cuales deben ser de una pureza muy alta y de grado de absorción atómica. Estas soluciones son de 1000 mg/L.
 - Las soluciones estándar de Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se, K, V y Zn. se describe para cada método específico.
- *Preparación de Patrones y Curva de Calibración*

Para la preparación de los patrones para la elaboración de la curva de calibración del elemento de interés, se partirá de soluciones madre de 1000 mg/L. Las curvas de calibración se elaborarán en función del tipo de matriz y del elemento de interés.

- *Pre tratamiento para las muestras de Plantas*
 - Se secó la muestra a 105°C.
 - Se trituró la muestra con el mortero.
 - Se colocó en cápsulas de porcelana y calcinó a 450°C durante dos horas, hasta que las cenizas quedaron de color blanco.
 - Se disolvió las cenizas en ácido nítrico y se realizó la digestión.
 - Después se dejó enfriar para luego filtrar los extractos por papel de filtro directamente a balones de 100ml donde se aforó con agua bidestilada.
 - Se guardó los extractos en frascos de polietileno refrigerados.
- *Procedimiento para muestras de Suelo y Plantas*
 - Se lavó la muestra de suelo con agua destilada.
 - Se secó la muestra a 105°C.
 - Se trituró la muestra en un mortero.

- Una vez triturada la muestra, se homogenizó para lograr uniformidad de las partículas, se usó un tamiz 0.5 mm con el fin de obtener partículas del mismo tamaño.
- Todos los equipos usados para la homogenización fueron limpiados correctamente para evitar cualquier tipo de contaminación externa.
- Por cada procedimiento de digestión, se pesó lo más cercano posible a 0,01g para transferir a un tubo de digestión 3 g (peso húmedo) o 2 g (peso seco) de muestra.
- Se añadió 10 mL de ácido nítrico concentrado y 10 mL de agua destilada la cual fue sometida a calentamiento ha reflujo en el bloque de digestión durante 30 minutos.

En la Tabla 2-3 se puede apreciar los parámetros analizados, el método por el cual se analizó cada uno de ellos y la marca del espectrofotómetro.

Tabla 2-1: Parámetros, método, marca y serie del espectrofotómetro usado en el análisis

Parámetros	PEE-LABSU	Métodos/Norma Referencia	Marca y serie del espectrofotómetro
As	PEE-LABSU-34	SM 3030 B, 3111D	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Cd	PEE-LABSU-20	SM 3030 B, 3111D	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Cr	PEE-LABSU-21	SM 3030 B, 3111D	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Cu	PEE-LABSU-26	SM 3030 B, 3111D	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Mn	PEE-LABSU-	SM 3030 B, 3111D	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Pb	PEE-LABSU-24	SM 3030 B, 3111 B	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Ni	PEE-LABSU-23	SM 3030 B, 3111 B	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Se	PEE-LABSU-34	SM 3030 B, 3111 B	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Zn	PEE-LABSU-11	SM 3030 B, 3112 B	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS
Va	PEE-LABSU-23	SM 3030 B, 3111 B	Thermo scientific iCE serie 3000 AAS

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

2.2.7 Evaluación del factor de bioacumulación/bioconcentración y traslocación

- *Evaluación del factor de bioacumulación/bioconcentración*

Para esto se utilizó las ecuaciones propuestas por Olivares y Peña (2009); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013), en la que se distingue la concentración de metales pesados en la planta y en el suelo; a través de las siguientes fórmulas:

$$\text{BCF Raíz} = [\text{metal}] \text{ raíz} / [\text{metal}] \text{ suelo} \quad (1)$$

$$\text{BCF Aérea} = [\text{metal}] \text{ aérea} / [\text{metal}] \text{ suelo} \quad (2)$$

Dónde:

BCF Raíz = Factor de bioconcentración en las raíz de la planta.

BCF Aérea = Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta.

[Metal] raíz = Concentración del metal solo en la raíz de la planta en mg/Kg.

[Metal] aérea = Concentración del metal solo en la parte aérea de la planta en mg/Kg.

[Metal] suelo = Concentración del metal en el suelo en mg/Kg.

- *Concentración del metal en la parte aérea de la planta.* (Baker et al. 1999).

Tabla 2-2: Concentración de metales en parte aérea de la planta

Metal	Concentración (mg/kg)	Clasificación
Cd	> 100	Híper acumuladora
Cu, Co, Cr, Ni o Pb	> 1000	Híper acumuladora
Mn o Zn	> 10000	Híper acumuladora

FUENTE: (Baker 1981).

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

- *Factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta* (Baker 1981).

Tabla 2-3: Factor de bioconcentración en parte aérea de la planta

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
BCFaérea	< 1	Excluyente
BCFaérea	1 < entre > 10	Acumuladora
BCFaérea	> 10000	Híper acumuladora

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

- *Factor de bioconcentración en la parte raíz de la planta* (Baker 1981).

Tabla 2-4: Factor de bioconcentración en la parte raíz de la planta

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
BCFraíz	< 1	Excluyente
BCFraíz	1 < entre > 10	Acumuladora
BCFraíz	> 10	Híper acumuladora

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

· *Evaluación de la translocación*

Se determinó dividiendo la concentración de la fitomasa aérea (mg/kg) entre la concentración de la fitomasa de la raíz de la planta, de acuerdo a Zhang, Cai, Tu y Ma (2002) y Olivares y Peña (2009) utilizando la siguiente relación. (MEDINA y MONTALVO 2013).

$$TF = [\text{metal}] \text{ aérea}/[\text{metal}] \text{ raíz} \quad (3)$$

TF = Factor de traslocación

[Metal] raíz = Concentración del metal solo en la raíz de la planta en mg/Kg.

[Metal] aérea = Concentración del metal solo en la parte aérea de la planta en mg/Kg.

Tabla 2-5: Factor de traslocación

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
FT	> 1	Traslada (Híperacumuladora)
FT	< 1	Estabiliza

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

2.8 Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA de un factor) a cuatro repeticiones de los tratamientos aplicados en el suelo con relave minero, al nivel de significancia de 5% y con una probabilidad del 95% respectivamente, lo que indicó que existe diferencias significativas (p value 0,00) entre las medias de las concentraciones de los 10 metales en los grupos suelo y raíz (BCFraíz), suelo tallo y hojas (BCFaérea), raíz tallo y hojas (FT). Las medias de las muestras fueron separadas

mediante el contraste de Duncan. Los análisis estadísticos de datos fueron realizados con el *software* estadístico SPSS.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Desarrollo morfológico de las plantas

Las plantas usadas en esta investigación fueron proporcionadas por el Banco de Germoplasma de Especie Forrajeras en la Estación Experimental INIAP, como se explica en el apartado 2.2.4 en el modelo experimental, se recolectaron diez ejemplares de cada especie vegetativa: a los dos pastos *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* se procedió a separar la raíz de la parte aérea usando una tijera podadora, fueron sembrados por estolón con una longitud de 4cm. cada uno; las plántulas de *Flemingia macrophylla* fueron sembradas con 6 hojas cada una teniendo aproximadamente dos meses de germinación.

Las especies se sembraron en un vivero en donde se llevó el proceso investigativo y un registro semanal del desarrollo de las partes vegetativas de las plantas, teniendo como resultado tablas descriptivas para determinar la media, desviación estándar, mínimos y máximos de los parámetros morfológicos que indican la fenomenología de la toxicidad de los metales en las plantas de cada especie vegetal.

Inicialmente la investigación empezó con cuatro especies vegetales pero la especie Matarratón (*Gliricidia Sepium*) inhibió su crecimiento a la tercera semana de su siembra, se deduce que una de las posibles causas se debe a los altos niveles de toxicidad razón por la cual la especie no se adaptó y murió; cabe recalcar que las 40 plantas se sometieron a las mismas condiciones atmosféricas.

Tabla 3-1: Estadísticos descriptivos de los parámetros de las especies vegetales

<i>Flemingia macrophylla</i>				
Parámetro	Media	Des. Estándar	Máx	Min
Hojas Nuevas	± 6	7,89	36	0
Hojas Caídas	± 3	3,27	18	0
Altura (cm)	± 28	14,68	69	7
Ramas	± 1	1,10	5	0
<i>Pennisetum purpureum</i>				
Parámetro	Media	Des. Estándar	Máx	Min
Hojas Nuevas	± 3	1,31	6	0
Hojas Caídas	0	0	0	0
Altura (cm)	± 85	63,13	254	4
Brotos	0	0,83	4	0
<i>Brachiara brizantha</i>				
Parámetro	Media	Des. Estándar	Máx	Min
Hojas Nuevas	± 3	1,01	5	0
Hojas Caídas	0	0	0	0
Altura (cm)	± 28	17,02	64	4
Ramas	0	0,75	4	0

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se calculó los estadísticos descriptivos de los parámetros de crecimiento de la especie *Flemingia macrophylla* en un tiempo determinado de 12 semanas, obtuvimos como resultado que la media de hojas nuevas es de 6 con un mínimo de 0 y un máximo de 36 hojas nuevas, la media de hojas caídas es de 3 con un mínimo de 0 y un máximo de 18 hojas caídas por planta; lo cual indica que nacen el doble de hojas en relación a las hojas caídas. La altura media de crecimiento de las plantas es de 28 cm, con una desviación estándar de 14,68 cm, la altura mínima de crecimiento es de 7 cm y la máxima de 69 cm. La media de ramas es de 1, con una desviación estándar de 1,10 lo que indica un crecimiento normal, con un mínimo de 0 y un máximo de 5 ramas por planta.

La especie *Pennisetum purpureum* muestra como resultado que la media de hojas nuevas es de 3 con un mínimo de 0 y un máximo de 6 hojas nuevas, la media de hojas caídas es de 0 con un mínimo de 0 y un máximo de 0 hojas caídas por planta, no se obtuvo hojas caídas ya que las gramíneas como en este caso lo es el *Pennisetum purpureum* poseen la característica de ABSCISIÓN que consiste en que las hojas secas no caen es decir quedan adheridas en el tallo.

La altura media de crecimiento de las plantas es de 58 cm, con una desviación estándar de 63,13 lo cual indica que el crecimiento es normal, la altura mínima de crecimiento es de 4 cm y la máxima de 254 cm. La media de brotes es de 0, con un mínimo de 0 y un máximo de 4 brotes por planta.

Los resultados de los descriptivos de la especie *Brachiara brizantha* indican que la media de hojas nuevas es de 3 con un mínimo de 0 y un máximo de 5 hojas nuevas, la media, mínimo y máximo de hojas caídas es de 0 debido a su característica de ABSCISIÓN; la altura media de crecimiento de las plantas es de 28 cm, la altura mínima de crecimiento es de 4 cm y la máxima de 64 cm.

La media de brotes es de 0, con un mínimo de 0 y un máximo de 4 brotes por planta. Las desviaciones estándar de los parámetros de crecimiento de las plantas indican que el crecimiento es normal.

3.2 Determinación de los índices foliar y caulinar

Tabla 3-2: Índices foliar y caulinar de las tres especies vegetales

Especie Vegetal	<i>Pennisetum purpureum</i>	<i>Brachiara brizantha</i>	<i>Flemingia macrophylla</i>
Índice Foliar	0,87	0,98	16,43
Índice Caulinar	46,38	0,92	0,820

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se identifica que la especie *Flemingia macrophylla* con un índice foliar de 16,43 indica mayor incrementación de masa foliar y por lo tanto mayor fotosíntesis, las especies *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* indican índices foliares menores de 0,87 y 0,98 respectivamente lo cual que demuestra que la transformación del contaminante es menor y por ende su acumulación.

El comportamiento del índice foliar del *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son similares debido a su características taxonómicas: ambas son Gramíneas, pero el índice caulinar que corresponde al tamaño de la planta es superior en *Pennisetum purpureum* alcanzando alturas promedio de 189,5 cm; lo que permite que éste mantenga una mayor área foliar para los procesos de biotransformación y bioacumulación del contaminante convirtiéndose en una especie fitorremediadora de suelos con altas concentraciones de metales pesados.

3.3 Concentración de metales pesados en el relave minero

Como se puede observar en el Gráfico 3-1 se realizó el análisis de metales pesados mediante ICP en el laboratorio CESTTA en el que obtuvo que los metales pesados presentes en el relave minero son: Vanadio, Zinc, Manganeso, Cobre, Cromo, Arsénico, Plomo, Níquel, Selenio, Cadmio, Molibdeno, Estroncio, Plata, Cobalto, Antimonio, Boro, Talio, Estaño, Berilio, Titanio y Litio; sobre los cuales se basaron en su concentración para seleccionar los metales pesados de mayor

interés mediante el diagrama de Pareto, estos fueron: Arsénico, Cadmio, Cromo, Cobre, Manganeso, Plomo, Níquel, Zinc, Selenio y Vanadio para posteriores análisis.

Estos metales son de nuestro interés debido a que pueden ingresar a la cadena trófica mediante a la interacción de sistemas dando como resultado problemas a la salud humana y animal («metales pesados en la salud» [sin fecha]).

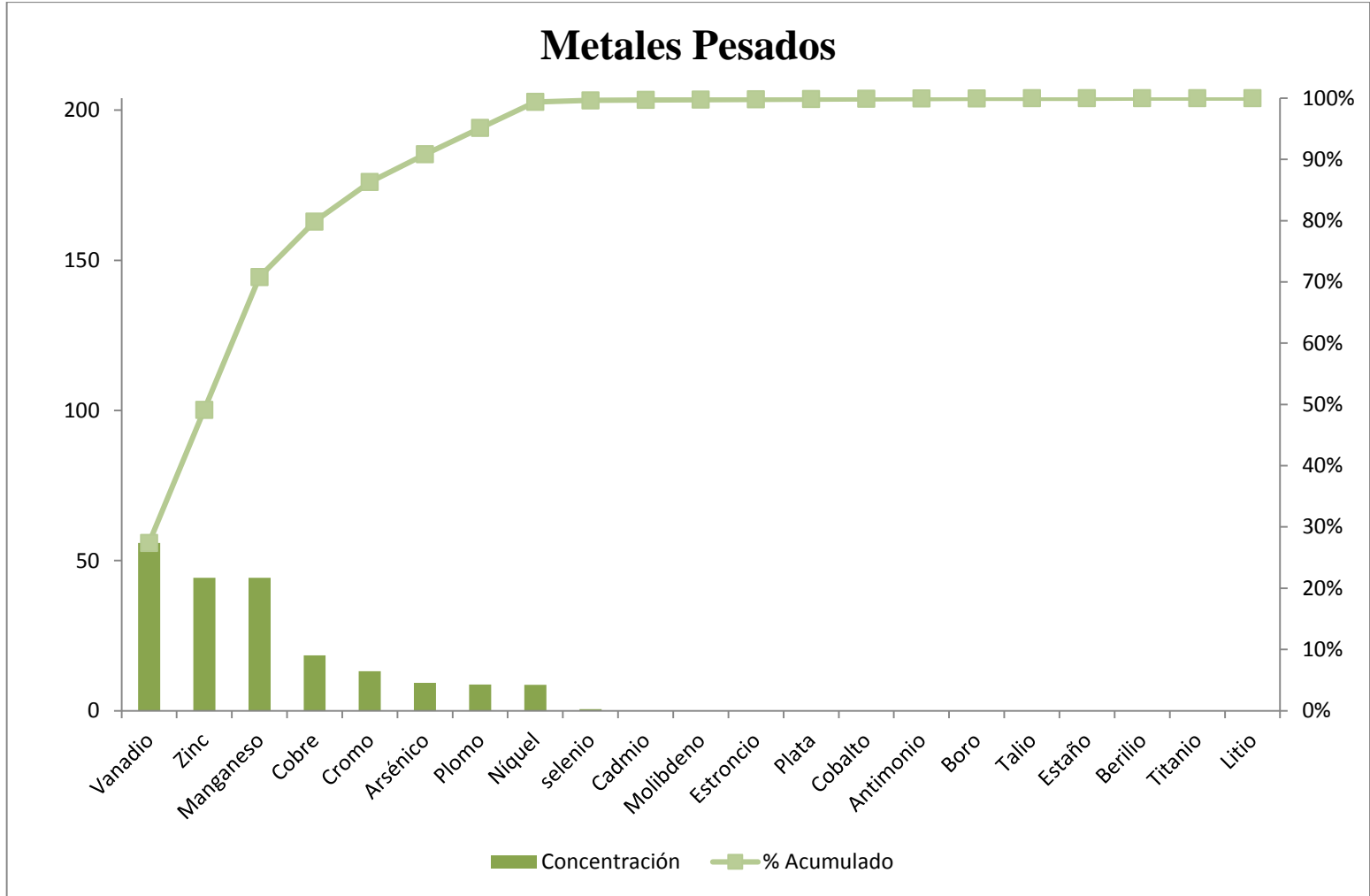


Gráfico 3-1: Diagrama de Pareto de los metales de interés

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018.

3.4 Bioconcentración de metales pesados en las tres especies vegetales introducidas en la Amazonía ecuatoriana.

Se determinó el factor de bioconcentración y traslocación; éstos nos ayudan a determinar la capacidad que tienen las plantas para absorber y traslocar metales del suelo a la parte aérea (Lokeshwari y Chandrappa, 2006); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

El factor de bioconcentración en la parte aérea de la planta, se determina calculando la relación entre la concentración contenida en la parte aérea de la planta con respecto al suelo (Vyslouzilova, 2003); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013). Baker, (Baker et al. 1999) considera que una planta puede o no ser híperacumuladora de ciertos metales (Cd, Cu, Co, Cr, Ni, Pb, Mn, Zn) si su concentración está dentro de los rangos establecidos como se observa en la tabla 2-2 .

Tabla 3-3: Concentración de metales en parte aérea de la planta

Metal	Concentración (mg/kg)	Clasificación
Cd	> 100	Híperacumuladora
Cu, Co, Cr, Ni o Pb	> 1000	Híperacumuladora
Mn o Zn	> 10000	Híperacumuladora

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

De igual manera Baker, (Baker 1981) supone que una planta puede ser híperacumuladora, acumuladora o excluyente si la concentración de metales se encuentra dentro de los rangos establecidos en la tabla 2-3.

Tabla 3-4: Factor de bioconcentración en parte aérea de la planta

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
BCFaérea	< 1	Excluyente
BCFaérea	1 < entre > 10	Acumuladora
BCFaérea	> 10000	Híperacumuladora

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El Factor de bioconcentración (BCF) o bioacumulación se determina en la raíz calculando la relación entre la concentración de metales en la raíz de la planta respecto a la concentración de metales en el suelo (Yoon, 2006); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013). Es por ello que con base al

criterio de Baker,(Baker 1981) como se observa en la tabla 2-4 se consideran los siguientes rangos para clasificar a las plantas como híperacumuladoras, acumuladoras o excluyentes.

Tabla 3-5: Factor de bioconcentración en la parte raíz de la planta

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
BCFraíz	< 1	Excluyente
BCFraíz	1 < entre > 10	Acumuladora
BCFraíz	> 10	Híperacumuladora

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El factor de traslocación (TF), es el cociente entre la concentración del metal en los órganos aéreos y raíz (Olivares et al., 2009); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013).

De acuerdo con Baker, (Baker 1981) un valor del Factor de Traslocación mayor a 1 indica una eficiente translocación del metal a brotes, si por el contrario, dicho valor es menor a 1, la translocación del metal es baja.

Tabla 3-6: Factor de traslocación

Factor	Concentración (mg/kg)	Clasificación
FT	> 1	Traslada (Híper acumuladora)
FT	< 1	Estabiliza

FUENTE: (Baker 1981)

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

- **Arsénico**

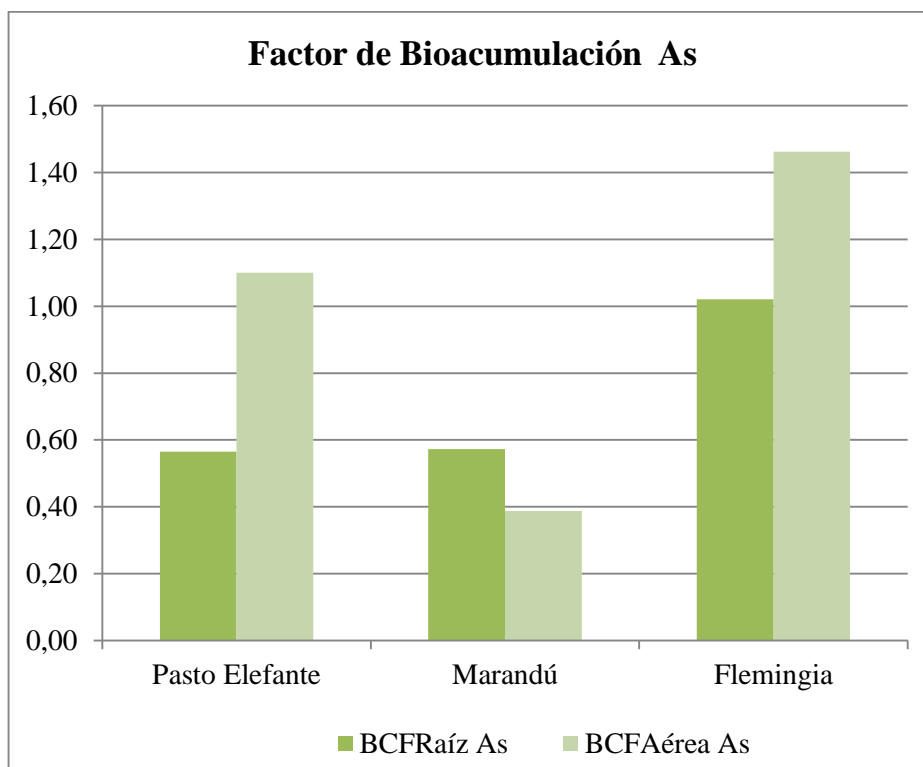


Gráfico 3-2: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Arsénico
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Los factores de bioacumulación nos manifiestan que las concentraciones de Arsénico en la parte aérea (Tallo y Hojas) fueron mayores que las concentraciones de Arsénico en la raíz de la plantas en las especies de *Pennisetum purpureum* y *Flemingia macrophylla*, lo que según Medina y Montalvo (MEDINA y MONTALVO 2013) indica la movilización de metales pesados en raíces y por lo tanto se las considera como plantas Acumuladoras, la especie *Brachiara brizantha* indica una baja movilidad de As de las raíces a la parte aérea considerándose exclusora; la especie de *Brachiara brizantha* y *Pennisetum purpureum* el factor de bioacumulación en la raíz muestra que las concentraciones de Arsénico fueron menores a 1 por la cual según (Audet y Charest, 2007); citado en (MEDINA y MONTALVO 2013) se las considera exclusoras, mientras que con base a sus concentraciones de *Flemingia macrophylla* demuestra ser Acumuladora.

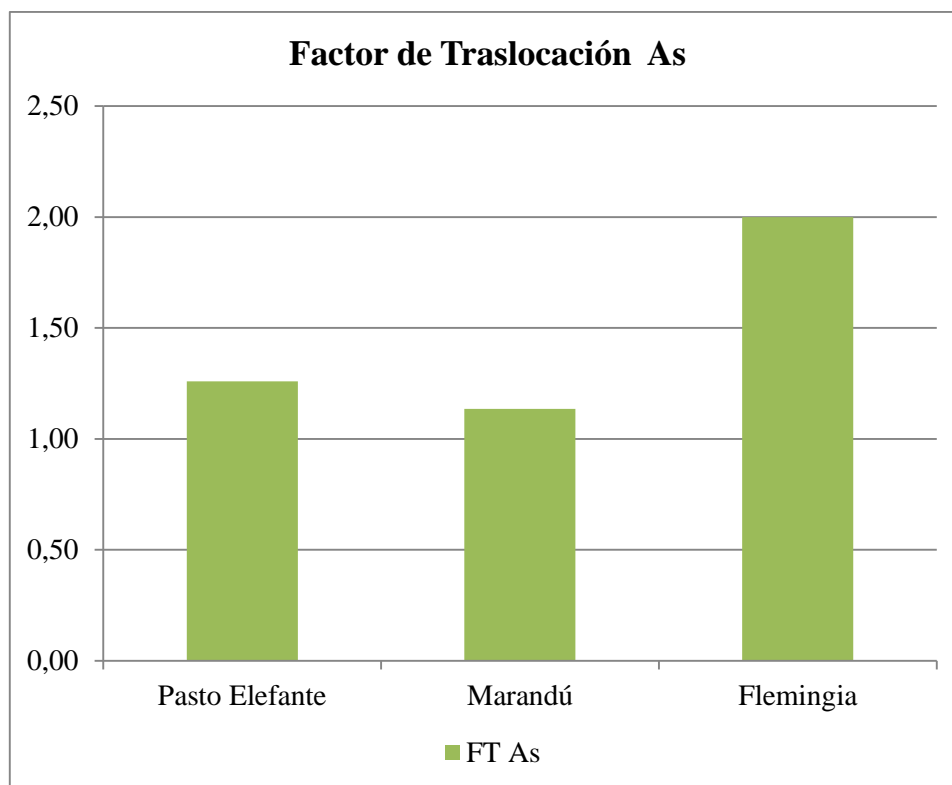


Gráfico 3-3: Comparación promedio del FT del Arsénico en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

En el gráfico se puede observar que las concentraciones de Arsénico mediante el factor de traslocación nos da valores mayores a 1 en las plantas *Flemingia macrophylla*, seguido *Pennisetum purpureum* y finalmente *Brachiara brizantha*, lo que indica según Baker (Baker et al. 1999) que la planta tiene una capacidad eficiente de translocación del metal a brotes.

• **Cadmio**

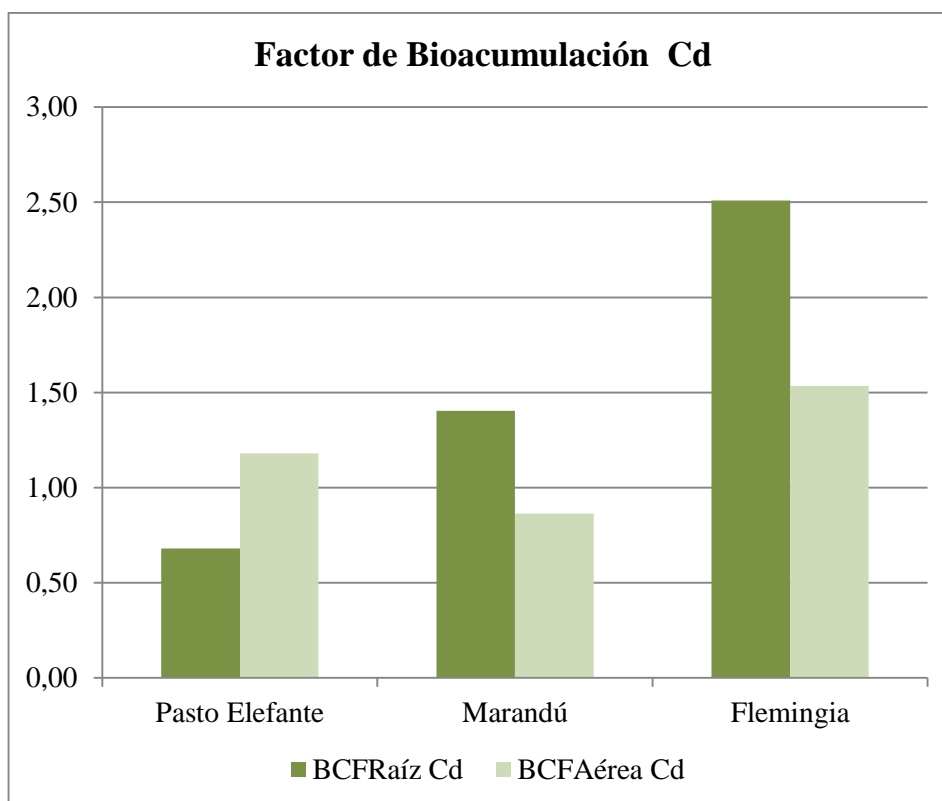


Gráfico 3-4: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cadmio
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Ninguna de las tres especies de plantas acumuló Cadmio a concentraciones mayores de 100 mg/kg en la parte aérea, según el criterio de Baker citado en (MEDINA y MONTALVO 2013) para ser considerado un hiperacumulador. Las plantas de *Pennisetum purpureum* fueron excluyentes ya que sus concentraciones fueron menores a 1, las concentraciones de Cadmio en la raíz fueron mayores que las concentraciones en la parte aérea de la planta en las especies *Flemingia macrophylla* y *Brachiara brizantha*.

El factor de bioacumulación en la parte aérea mostró ser mayor en las plantas de *Pennisetum purpureum* y *Flemingia macrophylla* indicando alta movilidad de metales en la raíz hacia la parte aérea, mientras que *Brachiara brizantha* se lo considera excluyente según Baker (Baker et al. 1999).

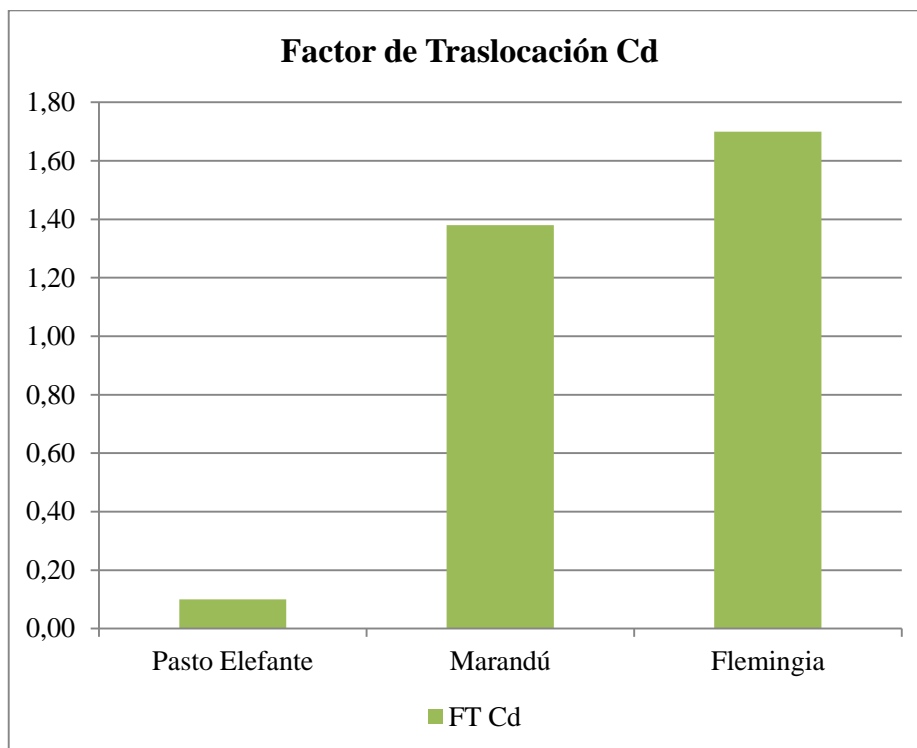


Gráfico 3-5: Comparación promedio del FT del Cadmio en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El factor de traslocación del Cadmio nos indica que las concentraciones de Cadmio fueron mayores a 1 en la especie *Flemingia macrophylla* y *Brachiara brizantha* por tanto según Baker citado en (MEDINA y MONTALVO 2013) tienen la capacidad de trasladar eficientemente Cadmio de la raíz a la parte aérea de la planta, por lo que se puede clasificar estas plantas como híper acumuladoras; mientras que las plantas de la especie *Pennisetum purpureum* debido a sus concentraciones menor a 1 significa que la planta no traslada eficientemente los metales pesados a la parte aérea de la planta, por lo que se puede decir según Baker (Baker et al. 1999) que la planta tiene la capacidad de fitoestabilizar Cadmio en sus raíces.

• **Cromo**

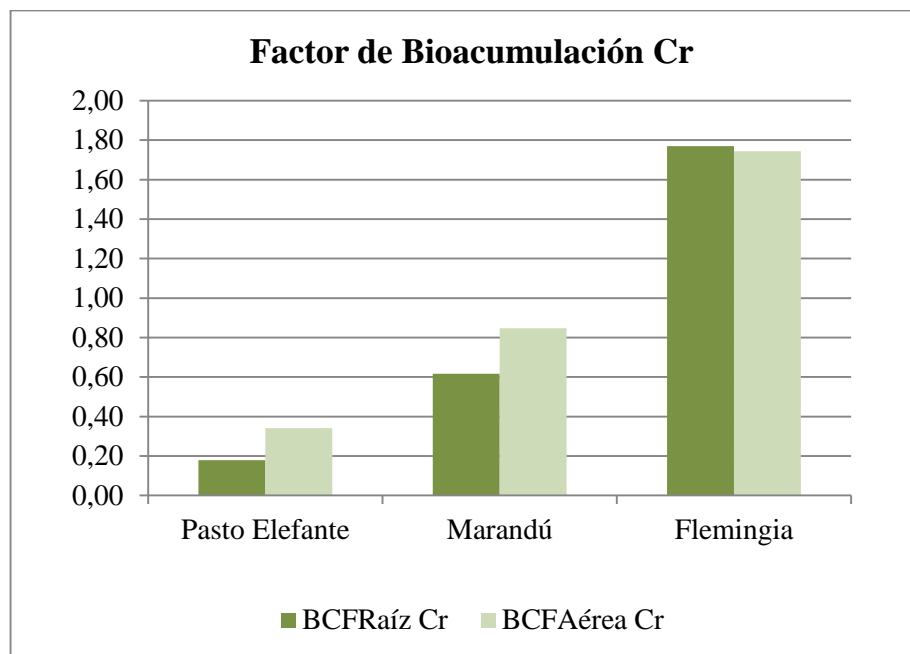


Gráfico 3-6: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cromo
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Ninguna de las plantas tiene concentración mayor a 1000 por lo que según Baker (Baker et al. 1999) se puede afirmar que ninguna es hiperacumuladora, las concentraciones de Cromo en la parte aérea de la planta fueron mayores a la de la raíz y con valores menores a 1 lo que demuestra que las plantas de las especies *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son todas excluyentes, mientras que las plantas de *Flemingia macrophylla* se las considera acumuladoras ya que sus concentraciones se encuentran en el rango $1 < BCF > 10$ según Baker (Baker et al. 1999).

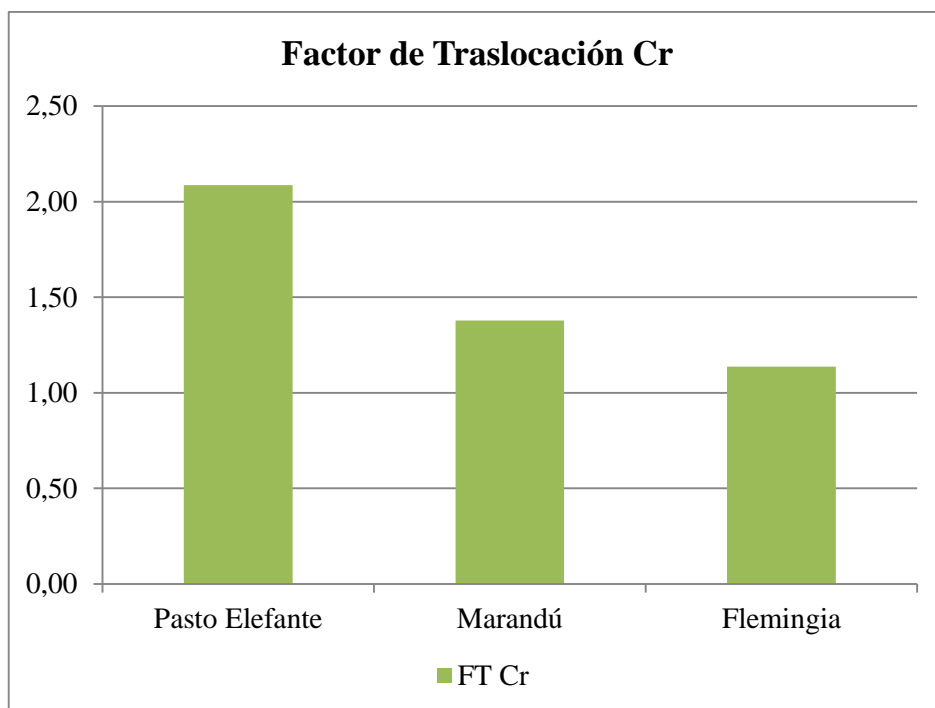


Gráfico 3-7: Comparación promedio del FT del Cromo en las plantas
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Las concentraciones de las plantas son de valor mayor a 1 principalmente en el *Pennisetum purpureum*, seguido por *Brachiara brizantha* y *Flemingia macrophylla* razón por la cual según Baker (Baker et al. 1999) se las considera híper acumuladoras.

• **Cobre**

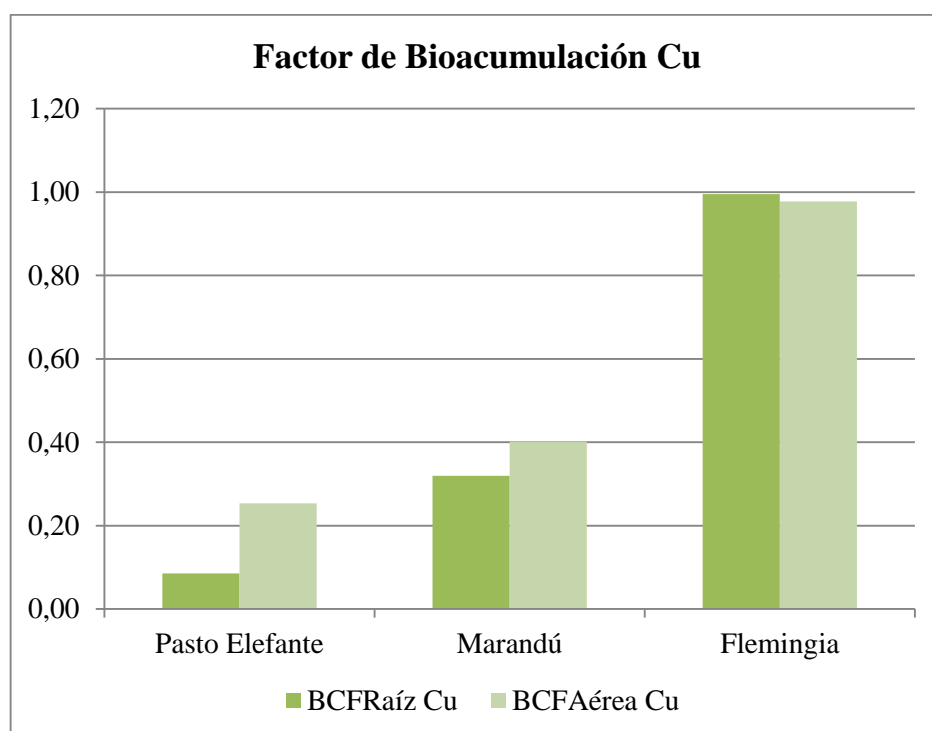


Gráfico 3-8: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Cobre
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Ninguna de las dos especies de plantas acumuló Cobre a concentraciones mayores de 1000 mg/kg en la parte aérea, según Baker (Baker 1981). Las concentraciones de Cobre en la raíz fueron mayores que las concentraciones de Cobre en la parte aérea de la planta en la especie *Flemingia macrophylla*, lo que indica inmovilización de Cobre en las raíces, mientras que en las plantas de la especie *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* las concentraciones en la parte aérea fueron mayores a las de las raíces indicando según Medina y Montalvo (MEDINA y MONTALVO 2013) alta movilidad de los metales en las raíces.

En base al criterio de Baker (Baker 1981) las especies *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* debido a sus concentraciones en la parte aérea de las plantas con valor menor a 1 son consideradas como excluyentes (Baker et al. 1999).

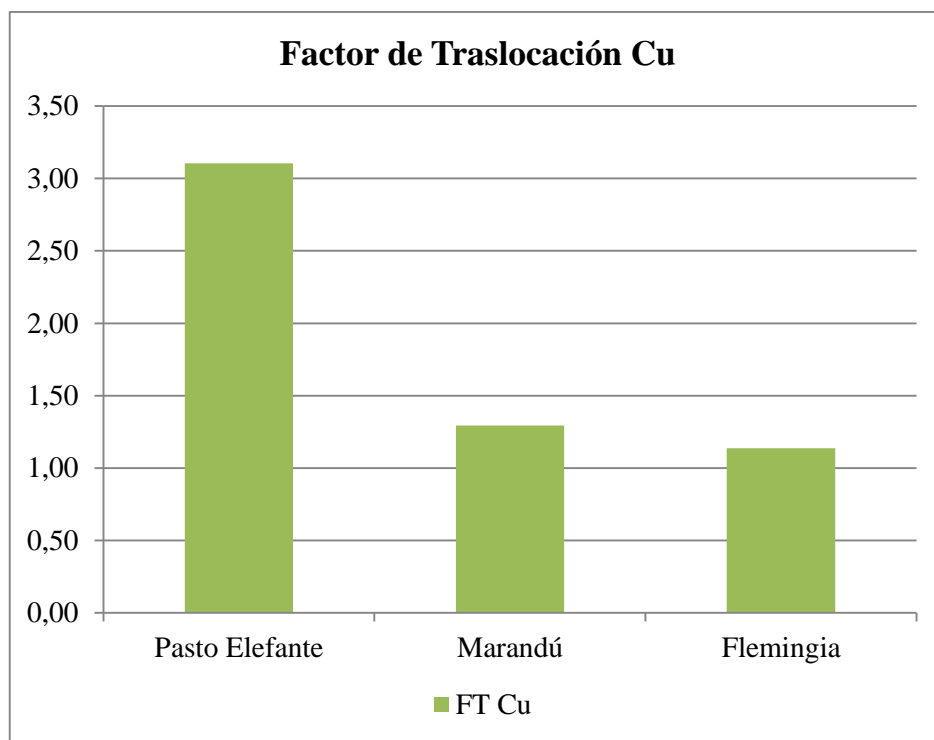


Gráfico 3-9: Comparación promedio del FT del Cobre en las plantas
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Las concentraciones de fueron mayores en el *Pennisetum purpureum*, seguido del *Brachiara brizantha* y *Flemingia macrophylla*; todas las concentraciones tienen valores mayor a 1 por lo que tienen la capacidad de trasladar eficientemente metales pesados de la raíz a la parte aérea de la planta, por lo que se puede clasificar a la planta como híper acumuladora según Medina y Montalvo (MEDINA y MONTALVO 2013).

- **Manganeso**

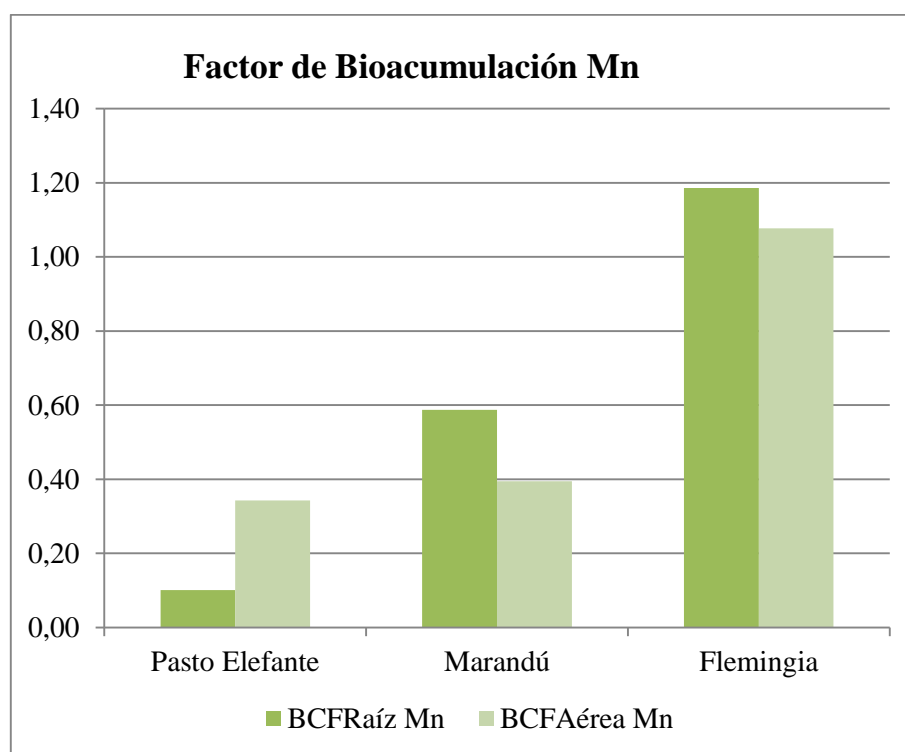


Gráfico 3-10: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Manganeso
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Ninguna de las especies *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* acumuló Manganeso a concentraciones mayores de 10 000 mg/kg en la parte aérea, según el criterio de Baker (Baker et al. 1999) para ser considerado una hípér acumuladora.

Las plantas de *Flemingia macrophylla* con sus concentraciones mayor a 1 en la parte aérea y raíz se la considera según Baker (Baker et al. 1999) acumuladora, las plantas de *Brachiara brizantha* y *Pennisetum purpureum* muestran concentraciones menor a 1 en raíces y parte aérea por lo que se las considera Excluyentes, lo que indica baja movilidad de Mn según Medina y Montalvo (MEDINA y MONTALVO 2013).

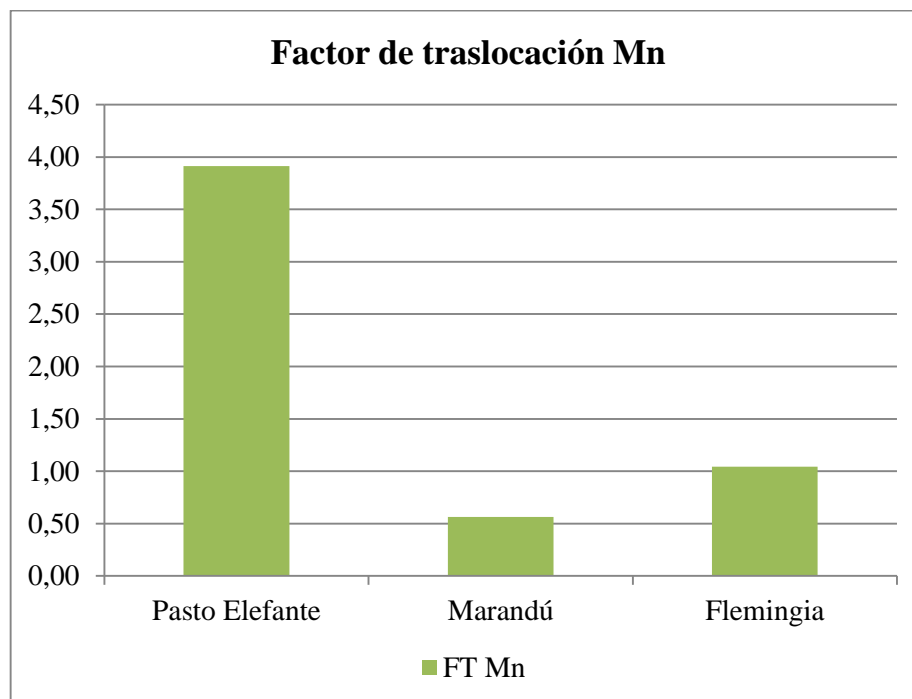


Gráfico 3-11: Comparación promedio del FT del Manganeseo en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Los valores de traslocación del Manganeseo superiores a 1 corresponden al *Pennisetum purpureum* con un valor medio de 4 y a la *Flemingia macrophylla* que según Baker (Baker 1981), califica a estas especies como híperacumuladoras; mientras que las plantas del *Brachiaria brizantha* con concentraciones < 1 no trasladan eficientemente el Manganeseo de la raíz a la parte aérea y según criterios de Baker, (Baker 1981).

• **Plomo**

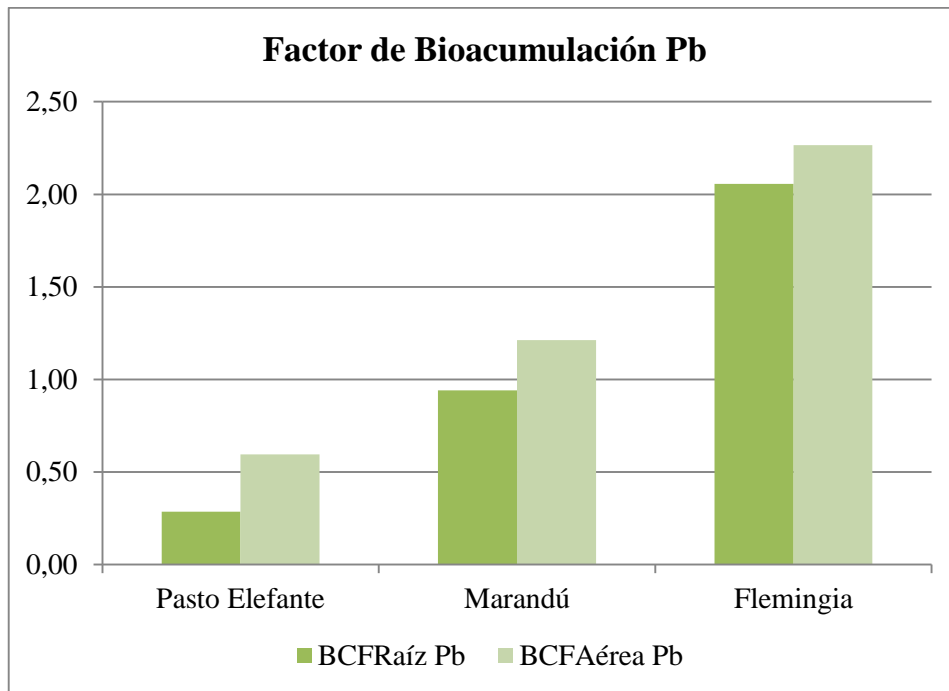


Gráfico 3-12: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Plomo
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Ninguna de las tres especies de planta acumuló Plomo a concentraciones mayores de 10 000 mg/kg en la parte aérea, según el criterio de Baker, (Baker et al. 1999) para ser considerado un hiperacumulador. Todas las concentraciones fueron mayores en la parte aérea de la planta lo que indica según Medina y Montalvo, (MEDINA y MONTALVO 2013) alta movilidad de Plomo en las raíces en la *Flemingia macrophylla* y *Brachiara brizantha*, siendo el *Pennisetum purpureum* excluyente; en cuanto al valor de las concentraciones solo la a la *Flemingia macrophylla* en la raíz se la considera acumuladora; mientras que el *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son excluyentes según Baker, (Baker 1981).

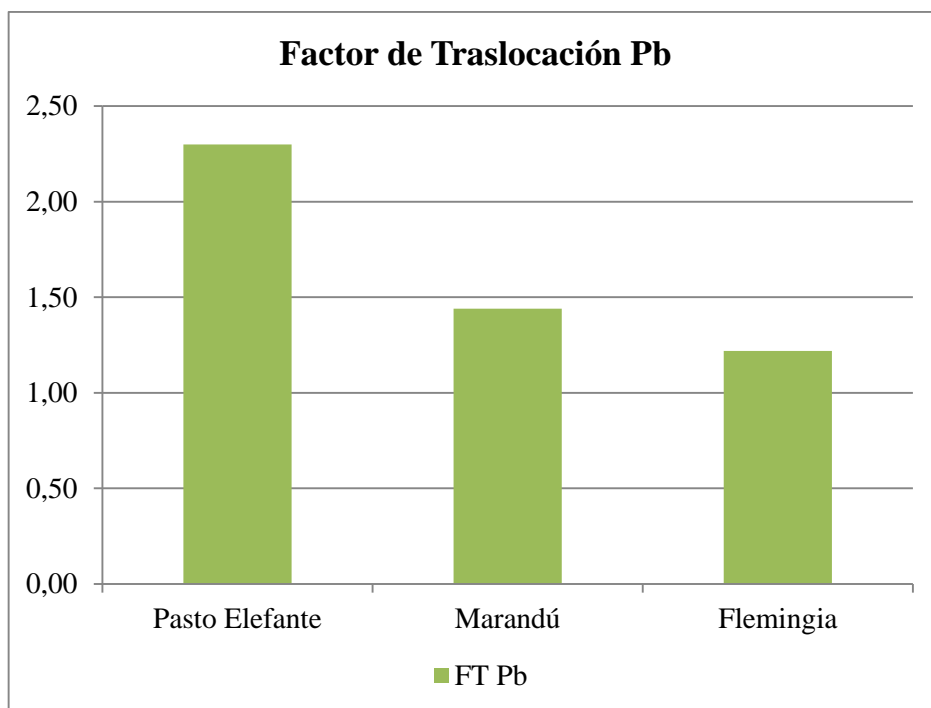


Gráfico 3-13: Comparación promedio del FT del Plomo en las plantas
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Todas las especies *Pennisetum purpureum*, *Brachiara brizantha* y *Flemingia macrophylla* son acumuladoras según Baker, (Baker 1981) ya que tienen la capacidad de trasladar Plomo de la raíz a la parte aérea de las plantas.

- **Níquel**

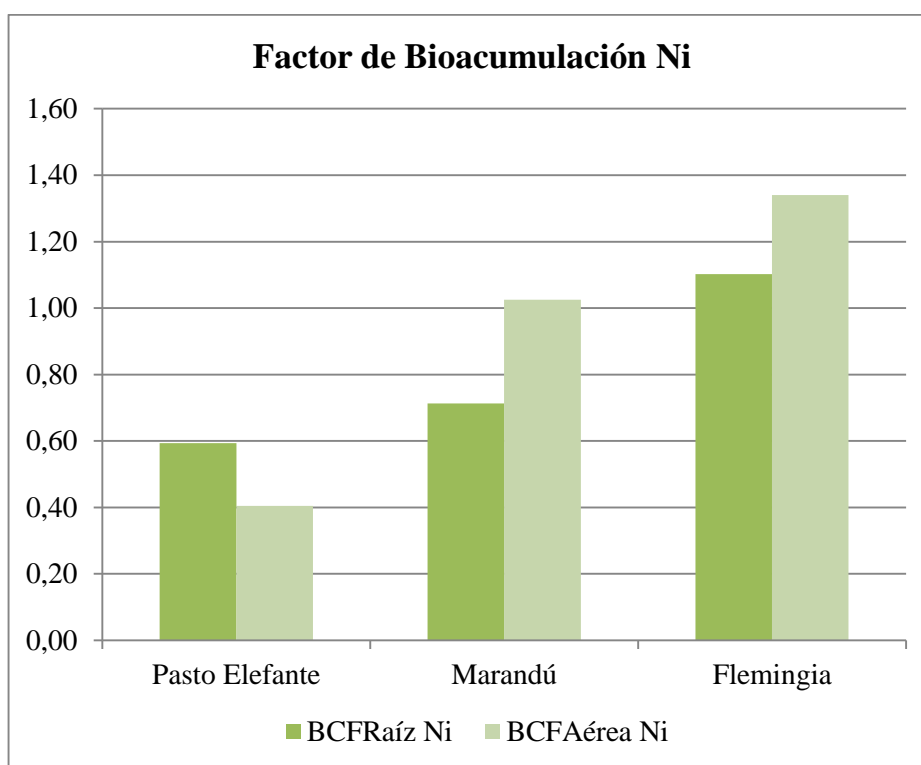


Gráfico 3-14: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea de Níquel
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018.

Las plantas de *Brachiara brizantha* y *Flemingia macrophylla* tienen concentraciones mayores en la parte aérea de la planta lo que indica según Medina y Montalvo, (MEDINA y MONTALVO 2013) alta movilidad de Níquel en las raíces y por lo tanto son consideradas como acumuladoras en base al criterio de Baker, (Baker et al. 1999); las plantas de *Pennisetum purpureum* indican inmovilización de Níquel ya que hay mayor concentración de este metal en la raíz que en la parte aérea por lo que es considerada como excluyente según Baker, (Baker et al. 1999).

Las especies de *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* con base a sus concentraciones en la raíz según Baker, (Baker et al. 1999) son consideradas excluyentes, siendo la *Flemingia macrophylla* acumuladora.

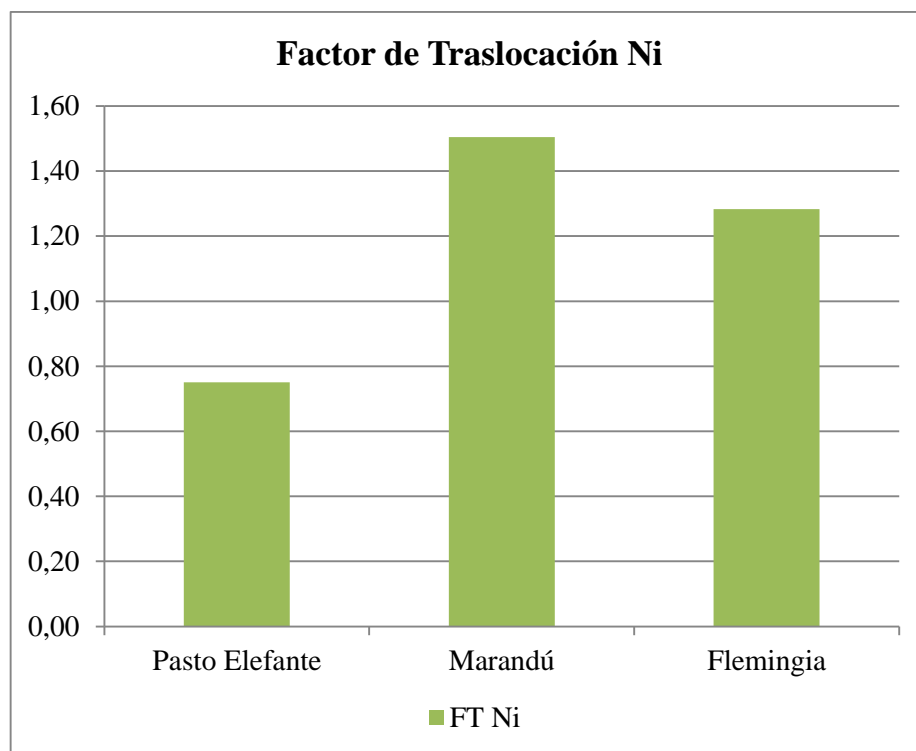


Gráfico 3-15: Comparación promedio del FT del Níquel en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018.

El *Pennisetum purpureum* no traslada eficientemente Níquel de la raíz a la parte aérea de la planta, por lo que se puede decir que la planta tiene la capacidad de fitoestabilizar Níquel en sus raíces según la consideración de Baker, (Baker 1981); el *Brachiara brizantha* y *Flemingia macrophylla* son considerados como acumuladores según Baker, (Baker 1981) debido a su capacidad de traslocar Níquel en las plantas.

• **Zinc**

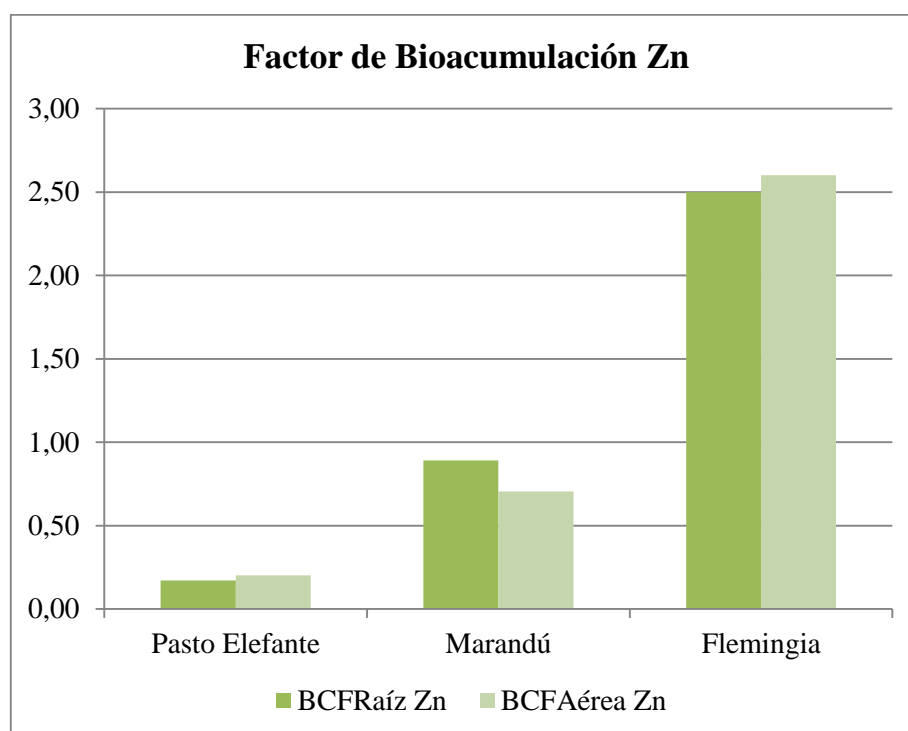


Gráfico 3-16: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Zinc
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018.

Ninguna de las tres especies de planta acumuló Zinc a concentraciones mayores de 10 000 mg/kg en la parte aérea, según el criterio de Baker, (Baker et al. 1999) para ser considerado un hiper acumulador. Las concentraciones altas de Zinc en las plantas de la especie *Flemingia macrophylla* indican que es considerada como acumuladora en la raíz y parte aérea, las especies de *Brachiara brizantha* y *Pennisetum purpureum* en base a sus concentraciones menor a 1 son consideradas como excluyentes según Baker, (Baker et al. 1999).

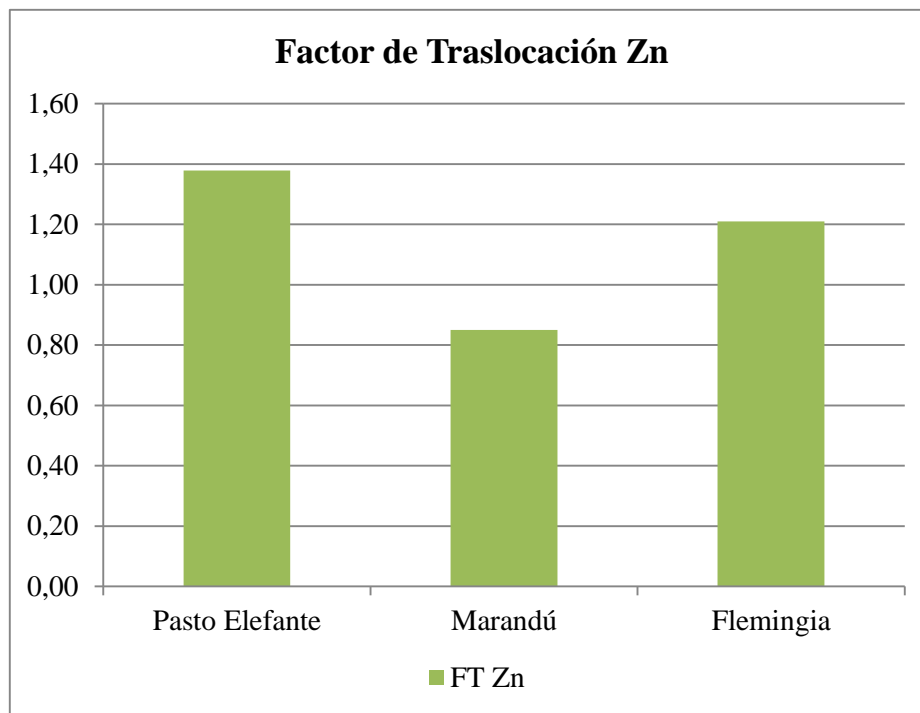


Gráfico 3-17: Comparación promedio del FT del Zinc en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018.

El *Brachiara brizantha* es considerado como estabilizador según Baker, (Baker 1981) ya que sus concentraciones son menores a 1, las especies de *Pennisetum purpureum* y *Flemingia macrophylla* son consideradas como híper acumuladoras ya que sus concentraciones indican que tienen la capacidad de trasladar eficientemente Zinc de la raíz a la parte aérea de la planta según el criterio de Baker, (Baker 1981).

- **Selenio**

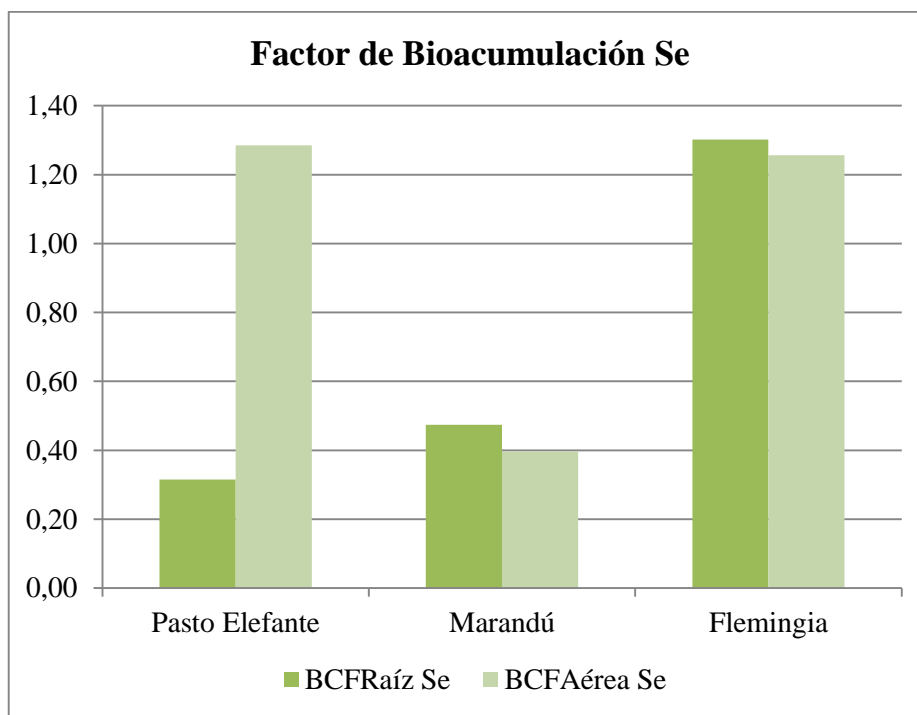


Gráfico 3-18: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Selenio
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Las especie *Flemingia macrophylla* en base a sus concentraciones mayores a 1 es considerada como acumuladora según Baker, (Baker et al. 1999) tanto en sus raíces como en la parte aérea, el *Pennisetum purpureum* es considerado acumulador en la parte aérea de la planta mientras que en las raíces indica inmovilización de Selenio según Medina y Montalvo, (MEDINA y MONTALVO 2013); *Brachiara brizantha* es considerado como excluyente ya que sus concentraciones son menores a 1 según la consideración de Baker, (Baker et al. 1999).

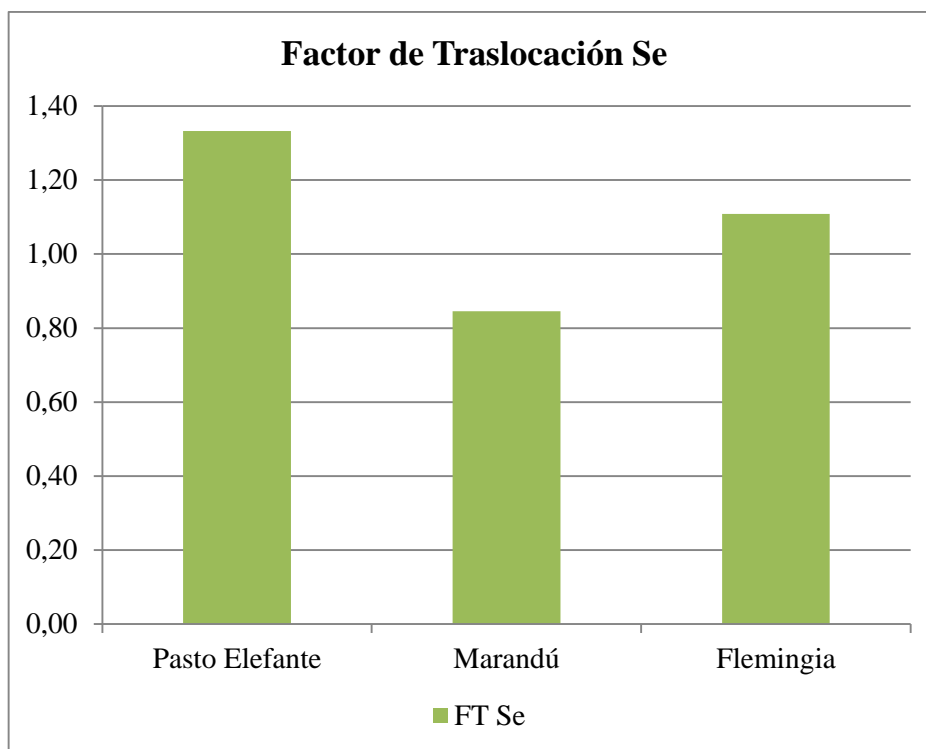


Gráfico 3-19: Comparación promedio del FT del Selenio en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Las especies *Pennisetum purpureum* y *Flemingia macrophylla* se consideran acumuladoras ya que tienen la capacidad de traslocar Selenio a la parte aérea de las plantas y en base a que sus concentraciones son mayores a 1 según Baker, (Baker 1981), mientras que el *Brachiara brizantha* tiene la capacidad de fitoestabilizar metales en sus raíces.

- **Vanadio**

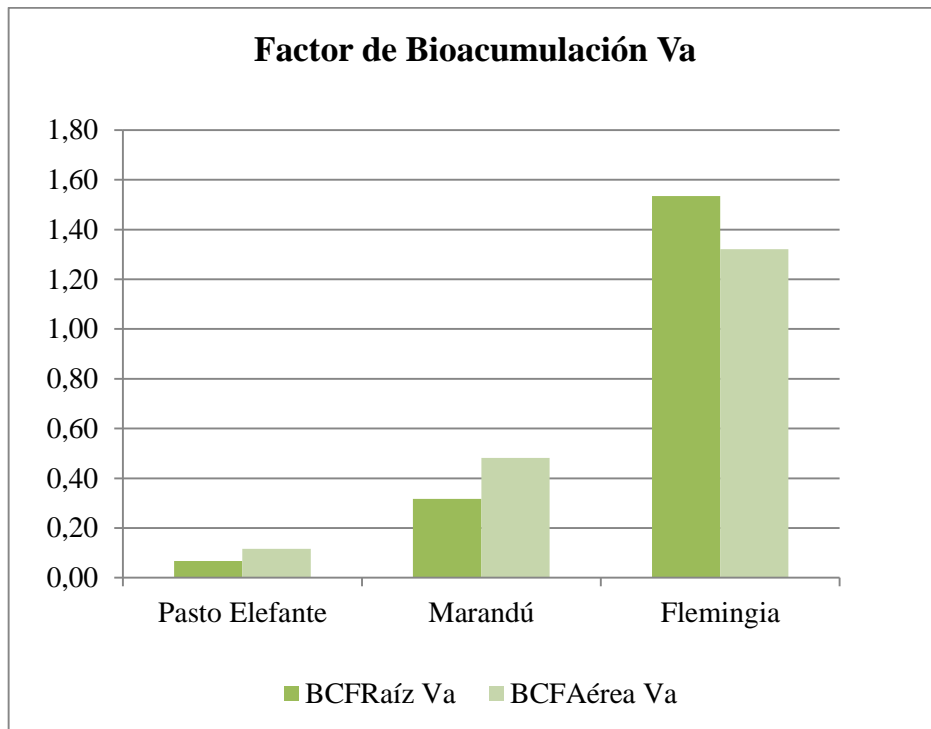


Gráfico 3-20: Comparación promedio del BCF raíz y BCF aérea del Vanadio
Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Las plantas de la especie *Flemingia macrophylla* son consideradas como acumuladoras en raíz y parte aérea según Baker, (Baker et al. 1999); ya que como muestra el gráfico sus concentraciones son mayores a 1, mientras que el *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son considerados como excluyentes ya que sus concentraciones son menores a 1, lo que indica inmovilización de Vanadio en la planta según Medina y Montalvo, (MEDINA y MONTALVO 2013).

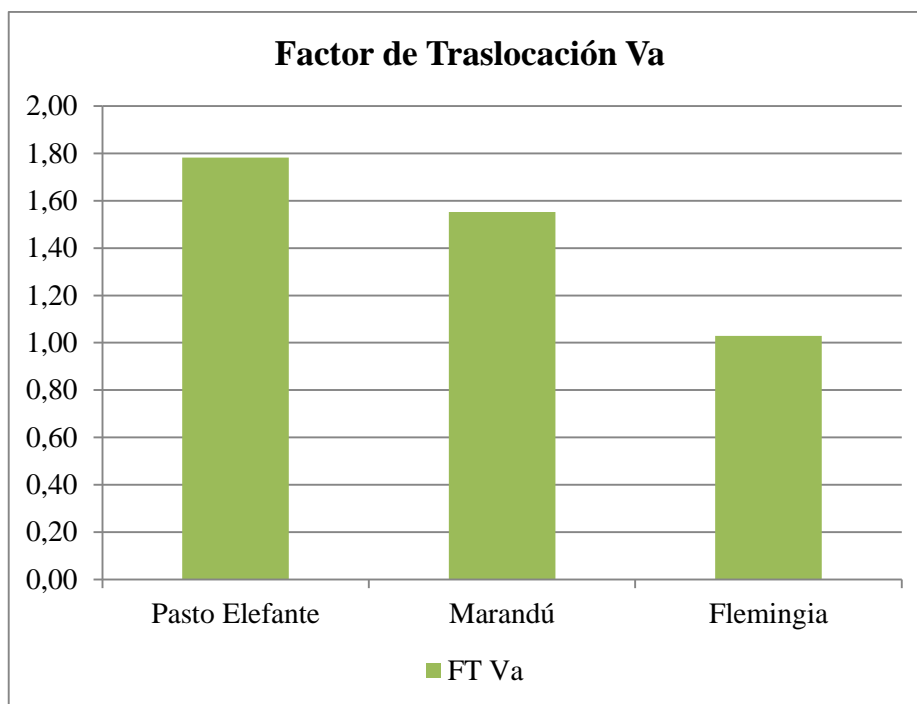


Gráfico 3-21: Comparación promedio del FT del Vanadio en las plantas
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Todas las especies *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son híper acumuladoras ya que tienen la capacidad de trasladar Vanadio del suelo a la parte aérea de las plantas según Baker, (Baker 1981) y en base a sus concentraciones son mayores a 1.

3.5 Análisis estadístico

El análisis estadístico nos reveló la especie vegetal que bioacumuló mayor concentración de metales pesados, la especie vegetal que traslocó mayor concentración de metales pesados y en qué parte de la planta se encuentra la mayor acumulación de los mismos.

3.5.1 Modelo estadístico para determinar que factor de concentración es el más eficiente en cuanto a la especie vegetal:

El modelo estadístico para determinar cuál de las tres especies vegetales: flemingia negra (*Flemingia macrophylla*), pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) o marandú (*Brachiara brizantha*) INIAP 711; es la más eficiente para bioacumular o trasladar metales pesados se obtuvo mediante el programa ANOVA de un factor, dando como resultado que:

$$\text{Concentracion de Metales} = \mu + \alpha * \text{Tipo de planta} + e_i \quad (4)$$

- Pasto elefante (*Pennisetum purpureum*)

Tabla 3.5-1: Concentraciones *Pennisetum purpureum* según Waller-Duncan a,b

FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FACTOR BIOACUMULACIÓN RAÍZ	40	,4303	
FACTOR BIOACUMULACIÓN AÉREA	40	,5277	
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	40		2,0437

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

- Se analizó las concentraciones de metales pesados de las plantas en relación a los factores de bioconcentración mediante el contraste de Waller-Duncan, como se observa en la Tabla 3-4 la media de concentración de metales pesados que mayor valor presentó fué el pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en raíz tallo y hojas, es decir mediante el factor de traslocación.
- Marandú (*Brachiara brizantha*) INIAP 711

Tabla 3.5-2: Concentraciones *Brachiara brizantha* según Waller-Duncan a,b

FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FACTOR BIOACUMULACIÓN RAÍZ	40	,5720	
FACTOR BIOACUMULACIÓN AÉREA	40	,6808	
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	40		1,2693

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El contraste de Duncan indica que se analizó las concentraciones de metales pesados de las plantas en relación a los factores de bioconcentración, como se observa en la Tabla 3-5 que la media de concentración de metales pesados que mayor valor presentó el marandú (*Brachiara brizantha*) INIAP 711 fué en raíz tallo y hojas (FT), es decir mediante el factor de traslocación.

- Flemingia negra (*Flemingia macrophylla*)

Tabla 3.5-3: Concentraciones *Flemingia macrophylla* según Waller-Duncan a,b

FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FACTOR BIOACUMULACIÓN AÉREA	40	1,6693	
FACTOR DE TRASLOCACIÓN	40	1,2870	
FACTOR BIOACUMULACIÓN RAÍZ	40		2,0437

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El contraste de Duncan demuestra que la media de concentración de metales pesados que mayor valor presentó la especie *Flemingia macrophylla* fué en suelo raíz (BCFraíz), es decir las plantas bioacumulaban mayormente metales mediante el factor de bioacumulación de la raíz.

3.5.2 Modelo estadístico para determinar la especie vegetal más eficiente:

Se analizó mediante el modelo estadístico ANOVA de un factor los datos de las concentraciones de la *Flemingia macrophylla*, *Brachiara brizantha* y *Pennisetum purpureum*; para determinar cuál de las tres especies bioacumuló o traslocó mayormente metales pesados en la raíz y parte aérea de la planta. Los datos fueron analizados la fórmula (5):

$$\text{Concentracion de Metales} = \mu + \alpha * \text{Grupo de bioconcentracion} + e_i \quad (5)$$

- $H_0: \mu_{sr} = \mu_{sth} = \mu_{rth}$
- $H_1: \text{Al menos una de las medias de bioconcentración de los metales es diferente}$

- Factor de bioacumulación en la raíz de la planta

Tabla 3.5-4: Concentraciones de BCF raíz según Waller-Duncan a,b

ESPECIE VEGETAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
<i>Pennisetum purpureum</i>	40	,5277	
<i>Brachiara brizantha</i>	40	,5720	
<i>Flemingia macrophylla</i>	40		1,3903

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Según el contraste de Waller-Duncan la especie vegetal que bioacumuló en la raíz mayor concentración de metales pesados es la *Flemingia macrophylla*, en base a la Tabla 3-7 podemos indicar que las plantas del *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* muestran medias homogéneas, mientras la *Flemingia macrophylla* indica una diferencia significativa en relación a las otras dos especies.

- Factor de bioacumulación en la parte aérea de la planta

Tabla 3.5-5: Concentraciones de BCF aérea según Waller-Duncan a,b

ESPECIE VEGETAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
PENNISETUM PURPUREUM	40	,4303	
BRACHIARA BRIZANTHA	40	,6808	
FLEMINGIA MACROPHYLLA	40		1,4982

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Aplicando el contraste de Waller-Duncan, se obtuvo que la mayor concentración de metales pesados que se bioacumularon en la parte aérea de la planta se realizó a través de la especie *Flemingia macrophylla*.

- Factor de traslocación en la planta

Tabla 3.5-6: Concentraciones de BCF aérea según Waller-Duncan a,b

ESPECIE VEGETAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05
-----------------	---	------------------------------

		1	2
PENNISETUM	40	,5213	
PURPUREUM			
BRACHIARA	40		1,6825
BRIZANTHA			
FLEMINGIA	40	,5069	
MACROPHYLLA			

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Brachiara brizantha es la especie vegetal que traslocó mayor concentración de metales pesados de la raíz hacia la parte aérea de la planta, con una diferencia significativa de 1,6825 como se puede observar en la Tabla 3-9.

3.5.3 Modelo estadístico para determinar que metal se concentró mayormente mediante los factores de concentración

- Factor de Bioacumulación en la raíz de la planta

Modelo Estadístico:

$$\text{Concentracion de Metales} = \mu + \alpha * \text{TIPO DE METAL} + e_i \quad (6)$$

$$H_0: \mu_{AS} = \mu_{CD} = \mu_{CR} = \mu_{CU} = \mu_{MN} = \mu_{PB} = \mu_{NI} = \mu_{ZN} = \mu_{SE} = \mu_{VA}$$

H_1 : Al menos una de las medias de bioconcentración de los metales es diferente en el suelo y raíz

Tabla 3.5-7: Concentración de metales bioacumulados en la raíz según Waller-Duncan a,b

TIPO DE METAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
ARSENICO	12	,3133			
COBRE	12	,4692	,4692		
MANGANESO	12	,6267	,6267	,6267	
VANADIO	12	,6367	,6367	,6367	
SELENIO	12	,6975	,6975	,6975	
NIQUEL	12	,8025	,8025	,8025	
CROMO	12	,8550	,8550	,8550	
PLOMO	12		1,0942	1,0942	1,0942
ZINC	12			1,1883	1,1883
CADMIO	12				1,6167

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

El contraste de Duncan indica las medias de los metales bioacumulados en las raíces de las plantas, como se observa el Cadmio es el que mayor diferencia significativa muestra en comparación con los otros metales; por lo que se puede decir que el metal mayormente bioacumulado es el Cadmio.

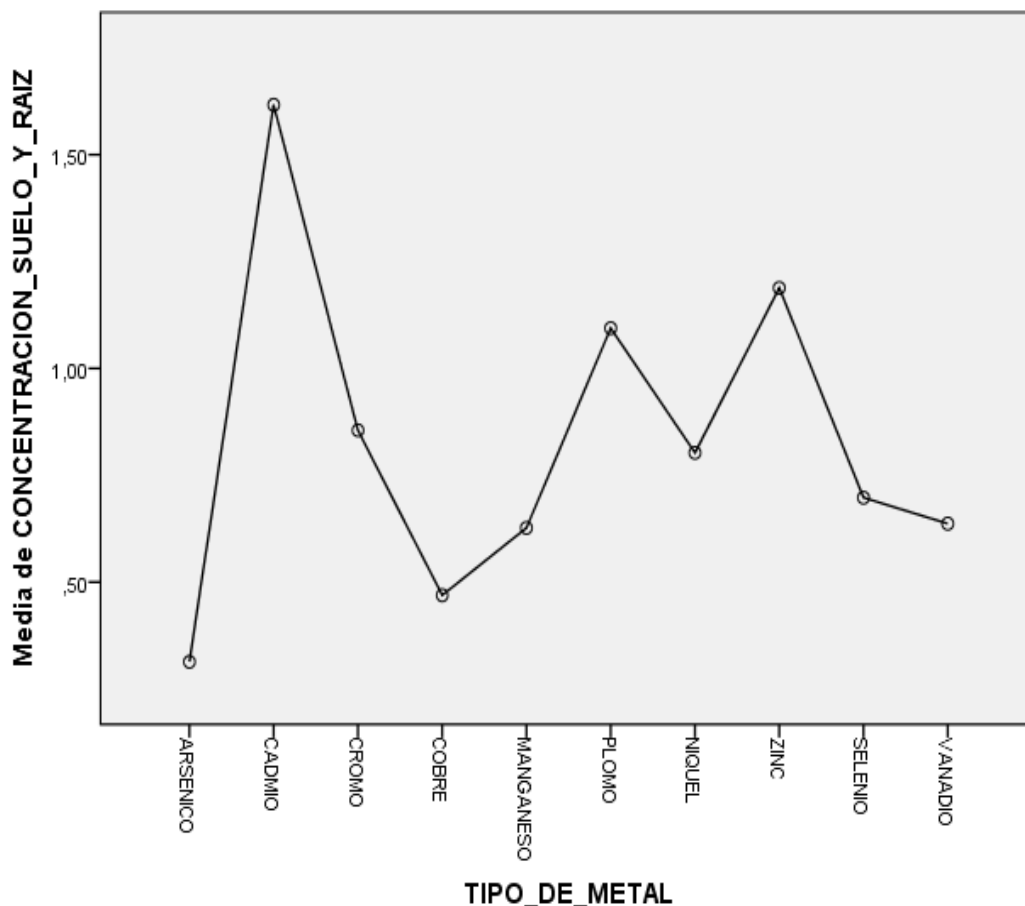


Gráfico 3.5-1: Metales bioacumulados en la raíz de la planta
 Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se puede observar el Gráfico 3.5-2 que los metales que se bioacumularon en la raíz son $Cd > Zn > Pb > Cr > Ni > Se > Va > Mn > Cu > As$; siendo el Cadmio con concentración más elevada.

En la planta, el cadmio se acumula preferentemente en la raíz secuestrado en la vacuola de las células, y solo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos, hojas, frutos y semillas según Chan y Hale, 2004; citado en (Rodríguez Serrano et al. 2008).

Altos contenidos de Cd en el medio de crecimiento inhiben la absorción Fe en las plantas, aun cuando los efectos de Cd varían a nivel de especie, en general el Cd interfiere en la absorción y

transporte de varios elementos (Ca, Mg, P y K) del agua según Das, 1998; citado en («Metales pesados en los cultivos» [sin fecha]).

- *Factor de Bioacumulación en la parte aérea de la planta*

Modelo Estadístico:

$$\text{Concentracion de Metales} = \mu + \alpha * \text{TIPO DE METAL} + e_i \quad (7)$$

$$H_0: \mu_{AS} = \mu_{CD} = \mu_{CR} = \mu_{CU} = \mu_{MN} = \mu_{PB} = \mu_{NI} = \mu_{ZN} = \mu_{SE} = \mu_{VA}$$

H_1 : Al menos una de las medias de bioconcentración de los metales es diferente en el suelo tallo y hojas

Tabla 3.5-8: Concentración de metales bioacumulados en la parte aérea

TIPO_DE_METAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
COBRE	12	,5433	
MANGANESO	12	,6067	
VANADIO	12	,6400	,6400
ARSENICO	12	,6600	,6600
CADMIO	12	,8433	,8433
NIQUEL	12	,9225	,9225
CROMO	12	,9767	,9767
SELENIO	12	,9783	,9783
ZINC	12	1,1692	1,1692
PLOMO	12		1,3575

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se analizaron las concentraciones de los metales para determinar cuál se bioacumuló mayormente en la parte aérea de las plantas y aplicando el contraste de Duncan se obtuvo que a pesar de que las medias son aproximadamente iguales se puede apreciar el metal con mayor concentración es el plomo.

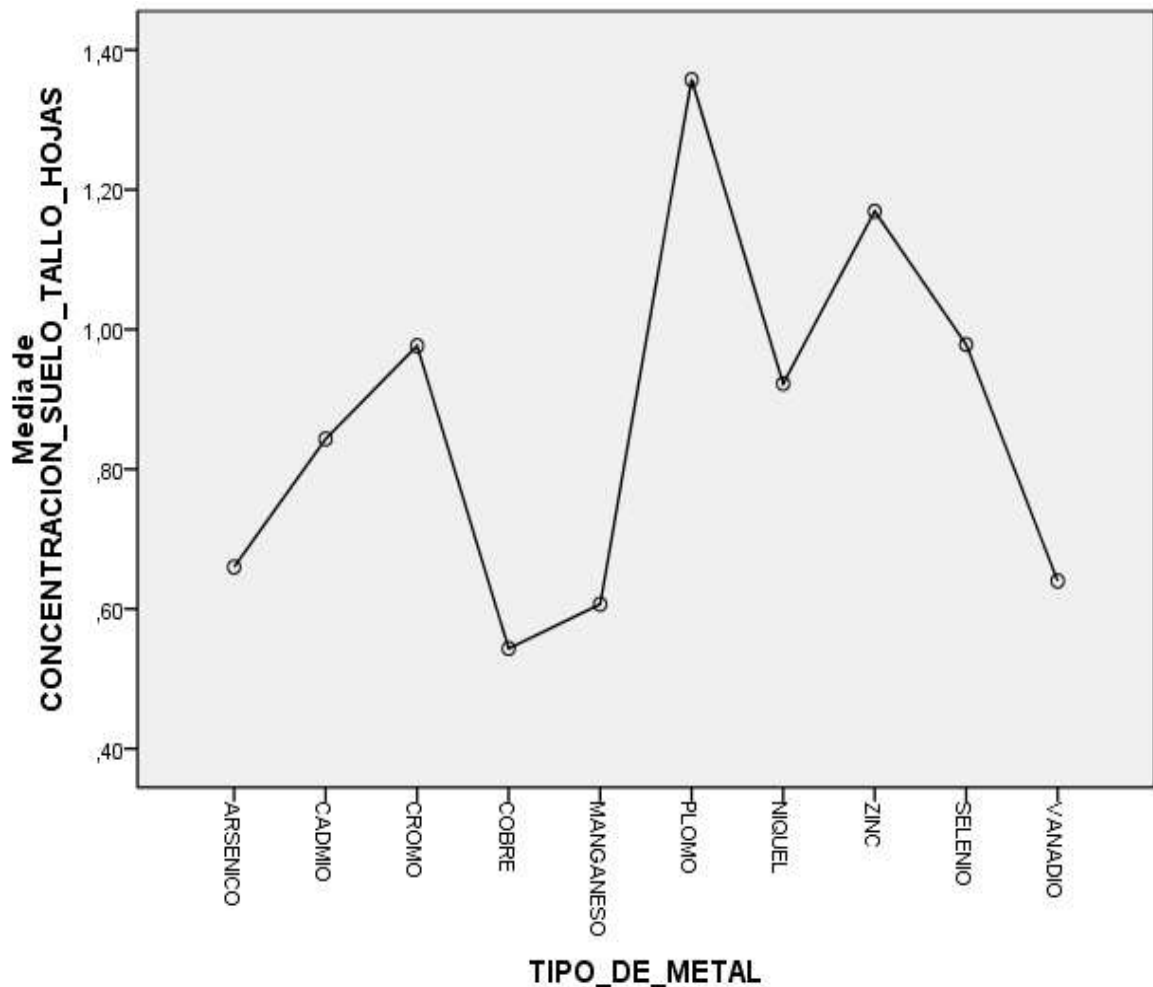


Gráfico 3.5-3: Metales bioacumulados en la parte aérea de la planta

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se puede observar el Gráfico 3.5-4 que los metales que se bioacumulaban en la parte aérea de la planta son $Pb > Zn > Se > Cr > Ni > Cd > As > Va > Mn > Cu$; siendo el Plomo con concentración más elevada.

La cualidad de acumular más Pb en la parte aérea que en la raíz es preferida en plantas que se usan con fines de fitorremediación, ya que esta parte es la que se cosecha y posteriormente se confina junto con los contaminantes que contienen. Al respecto, Brown, 1994; citado en (Rodríguez Ortiz Juan Carlos, Rodríguez Fuentes Humberto 2006) mencionaron que algunas especies podrían poseer un sistema interno muy específico de “bombear” metales de los tejidos radicales hacia los de la parte aérea.

- *Factor de Traslocación*

Modelo Estadístico:

$$\text{Concentracion de Metales} = \mu + \alpha * \text{TIPO DE METAL} + e_i \quad (8)$$

- $H_0: \mu_{AS} = \mu_{CD} = \mu_{CR} = \mu_{CU} = \mu_{MN} = \mu_{PB} = \mu_{NI} = \mu_{ZN} = \mu_{SE} = \mu_{VA}$
- $H_1: \text{Al menos una de las medias de bioconcentración de los metales es diferente en la raíz, tallo y hojas}$

Tabla 3.5-9: Concentración de metales traslocados según Waller-Duncan a,b

TIPO_DE_METAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CADMIO	12	1,0583		
SELENIO	12	1,0958	1,0958	
ZINC	12	1,1467	1,1467	
NIQUEL	12	1,1775	1,1775	
VANADIO	12	1,4558	1,4558	
CROMO	12	1,5358	1,5358	
PLOMO	12	1,6533	1,6533	
MANGANESO	12		1,8383	1,8383
COBRE	12		1,8467	1,8467
ARSENICO	12			2,5250

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se analizaron las concentraciones de los metales para determinar cuál se trasladó mayormente de la raíz a la parte aérea de las plantas mediante la aplicación del contraste de Duncan y se determinó que el metal con mayor concentración es el arsénico.

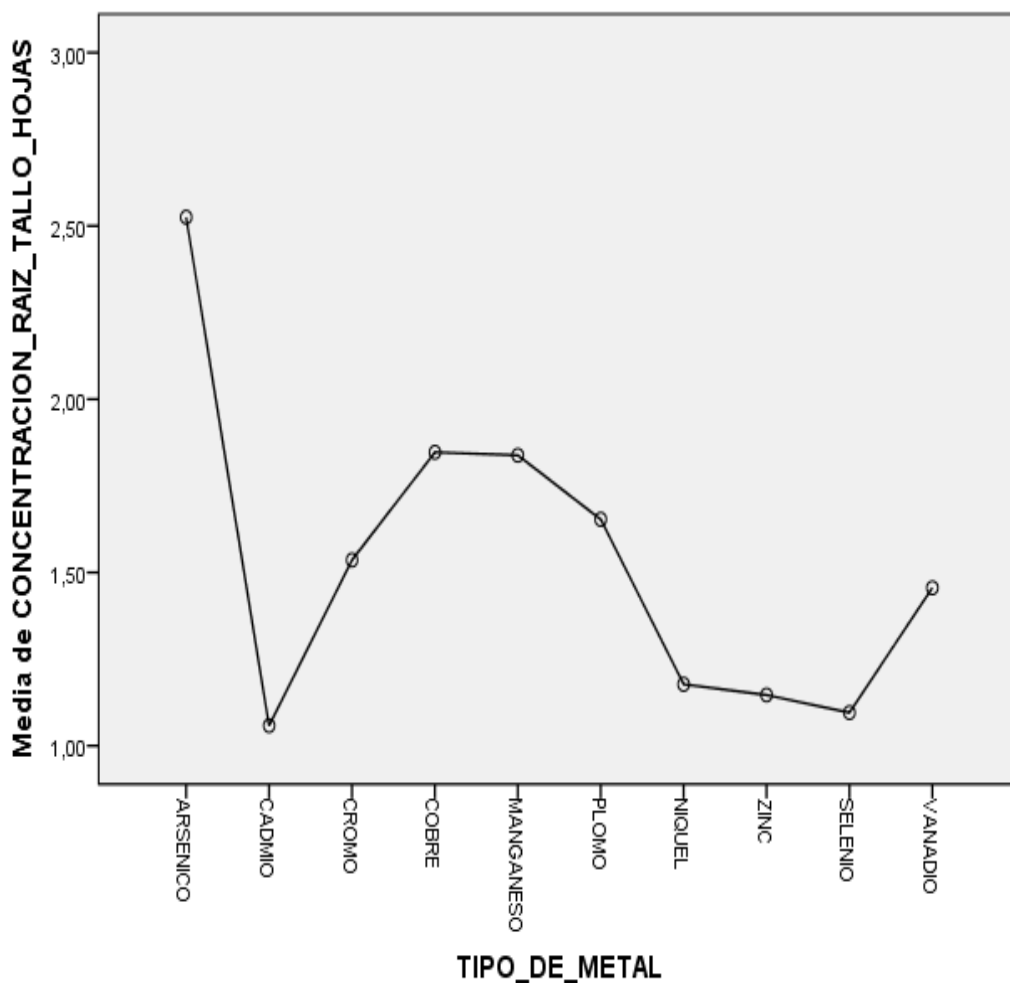


Gráfico 3.5-5: Metales traslocados de la raíz a la parte aérea de la planta

Realizado por: Espinoza, Yaren; Vallejo, Paúl; 2018

Se puede observar el Gráfico 3.5-6 que los metales que se traslocaron de la raíz a la parte aérea de las plantas son $As > Cu > Mn > Pb > Cr > Va > Ni > Zn > Se > Cd$; siendo el Arsénico con concentración más elevada.

Una vez absorbido el As por la raíz, las especies iónicas de arsénico pueden ser almacenadas, exudadas al medio externo o traslocadas a la parte aérea de la planta mediante el xilema; según Salt y Col, 1998; citado en (García 2013). La tolerancia de las distintas especies de plantas a los efectos tóxicos de los metales se debe a la existencia de diversos y específicos mecanismos de detoxificación del metal acumulado, bien mediante exclusión por minimización de la absorción a través de la membrana celular de las raíces, o bien mediante tolerancia por acumulación y biotransformación según el criterio de Quaghebeur y Rengel, 2005; citado en (García 2013) o por aumento del flujo de especies arsenicales de la raíz a la parte aérea de la planta según Zhao y col., 2010; citado en {Formatting Citation}.

3.6 Análisis de Resultados

Según el criterio de Baker (Baker et al. 1999) ninguna de las especies es híper acumuladora, sin embargo lograron tolerar altas concentraciones de metales pesados.

La especie *Flemingia macrophylla* demostró ser acumuladora de Cadmio, Cromo, Cobre, Manganeso, Plomo, Níquel, Zinc, Selenio y Vanadio tanto en la raíz como en la parte aérea de la planta; el Arsénico no se acumuló en la raíz, pero sí en la parte aérea; según el criterio de Zhao y col., 2010; citado en (García 2013) se debe por aumento del flujo de especies arsenicales. Su factor de Bioconcentración y Traslocación alto indican que tiene la capacidad de acumular y traslocar.

El crecimiento de las plantas fué normal, presentando síntomas visibles como clorosis (amarillamiento de las hojas) esto sucede frecuentemente debido a que los metales pesados ingresan hacia la planta camuflados con otros elementos esenciales para el desarrollo reemplazando sus actividades, bloqueando sus grupos funcionales, modificando su conformación llegando a causar estrés oxidativo según Azpilicueta, Pena y Gallego (Azpilicueta, Pena y Gallego 2010), el índice foliar de 16,43 indica que esta especie presenta mayor incrementación de masa foliar y mayor fotosíntesis, el índice caulinar indica que la altura promedio de las plantas es de 52,5 cm lo cual es idóneo considerando el tiempo de vida; por lo tanto la transformación del contaminante es mayor lo cual se ve reflejado en su capacidad de acumulación.

La especie *Brachiara brizantha* indicó un factor de Bioconcentración bajo en la raíz para todos los metales y en la parte aérea para Arsénico, Cadmio, Cobre, Manganeso, Plomo, Zinc, Selenio y Vanadio a excepción de Cromo y Níquel lo cual demuestra que es exclusor; el factor de Traslocación es alto para Cadmio, Cromo, Cobre, Plomo, Níquel, Selenio, Vanadio y Arsénico a excepción del Manganeso y Zinc que en base a sus concentraciones menores a 1 se los clasifica como estabilizadores según Baker, (Baker 1981) por lo que pueden ser utilizadas para fitoestabilizar sitios contaminados.

La fitoestabilización puede minimizar la migración de contaminantes en los suelos según Susarla, Medina & McCutcheon, 2002; citado en (MEDINA y MONTALVO 2013). El índice foliar de 0,98 indica que esta especie presenta mayor incrementación de masa foliar a comparación el *Pennisetum purpureum* considerando que estas dos especies son similares debido a su características taxonómicas, el índice caulinar indica que la altura promedio de las plantas es de 54 cm lo que indica que el área foliar es normal.

La especie *Pennisetum purpureum* presentó un factor de Bioconcentración bajo en la raíz para Cromo, Cobre, Plomo, Níquel, Selenio, Vanadio, Arsénico, Manganeso y Zinc excepto para el Cadmio y en la parte aérea para todos los metales; lo cual según Baker, (Baker 1981) lo clasifica

como excluyente. Para el factor de Traslocación indica que esta especie traslada los metales Arsénico, Cromo, Cobre, Manganeso, Plomo, Zinc, Selenio y Vanadio; mientras que el Cadmio y Níquel son estabilizados. Esta especie puede ser utilizada en procesos de fitoextracción y fitoestabilización. Los metales pesados que se acumularon mayormente fueron el Cadmio en las raíces y el Plomo en la parte aérea de la planta; mientras que el metal que se trasladó mayormente de la raíz a la parte aérea es el Arsénico.

El índice foliar de 0,87 indica menor incrementación de masa foliar, sin embargo el comportamiento del índice caulinar de 46,38 es superior alcanzando alturas promedio de 189,5 cm; lo que permite que éste mantenga una mayor área foliar para los procesos de biotransformación y bioacumulación del contaminante.

Comparando la capacidad de las tres especies para tomar los metales de los suelos y la traslocarlos a la parte aérea podemos indicar que *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son especies vegetales idóneas para procesos fitoextracción de los metales As, Cr, Cu, Mn, Pb, Zn, Se, Va; y As, Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Va respectivamente. Las plantas que presentan valores de TF, especialmente FBC menores de uno, no son adecuados para la fitoextracción Fitz y Wenzel, 2002; citados en (MEDINA y MONTALVO 2013).

Tanto el factor de bioconcentración (BCF) y el factor de traslocación (TF) pueden ser usados para estimar el potencial de una planta para propósitos de fitorremediación, las tres especies *Flemingia macrophylla*, *Pennisetum purpureum* y *Brachiara brizantha* son consideradas aptas para procesos de fitorremediación (MEDINA y MONTALVO 2013).

Las plantas denominadas exclusoras según Baker, (Baker 1981); pueden ser usadas como ayuda en el procesos de recuperación de un ecosistema que ha sido dañado o destruido ya que reduce la movilidad del metal y, por tanto, disminuye la biodisponibilidad de entrada a la cadena alimentaria y mejora las condiciones de atenuación natural según Millán, 2007 y Wong, 2003; citado en (Cuevas 2010). Esta técnica disminuye el impacto visual, debido a que cubren la superficie del suelo, de esta manera, las raíces lo estabilizan físicamente para prevenir la erosión, reducir la percolación del agua, prevenir el contacto directo con el suelo, aumentar la biodiversidad, mejorar la deposición orgánica y el ciclo de nutrientes, beneficiando la superficie del suelo y dejando los metales inactivados en el lugar (Barceló y Poschenrieder, 2003 y Mench et al., 2006); citado en (Cuevas 2010).

CONCLUSIONES

- Se realizó la caracterización de los metales pesados presentes en el relave minero, los cuales son Vanadio, Zinc, Manganeso, Cobre, Cromo, Arsénico, Plomo, Níquel, Selenio, Cadmio, Molibdeno, Estroncio, Plata, Cobalto, Antimonio, Boro, Talio, Estaño, Berilio, Titanio y Litio; de éstos se seleccionó únicamente los metales de mayor interés para la investigación mediante el Diagrama de Pareto.
- El crecimiento de las plantas se verificó en base al seguimiento semanal del desarrollo morfológico y fisiológico, donde se registraba los nuevos brotes, hojas nuevas, hojas caídas, y altura de todas las especies, a excepción del matarratón (*Gliricidia sepium*) que no se adaptó y murió en la tercera semana. La especie *Flemingia macrophylla* presentó clorosis (amarillamiento de las hojas) debido a que los metales pesados ingresan hacia la planta camuflados con otros elementos esenciales.
- De acuerdo al factor de Bioconcentración los metales pesados que se bioacumularon en la raíz son $Cd > Zn > Pb > Cr > Ni > Se > Va > Mn > Cu > As$; siendo el Cadmio con concentración más elevada.
Los metales que se bioacumularon en la parte aérea de la planta son $Pb > Zn > Se > Cr > Ni > Cd > As > Va > Mn > Cu$; siendo el Plomo con concentración más elevada.
- Los metales que se traslocaron de la raíz a la parte aérea de las plantas son $As > Cu > Mn > Pb > Cr > Va > Ni > Zn > Se > Cd$; siendo el Arsénico con concentración más elevada.
- Con base a los índices foliares y caulinares se puede decir que de las tres especies vegetales investigadas la especie *Flemingia macrophylla* es la mejor especie fitorremediadora, en cuanto a las dos especies de gramíneas, la mejor es *Pennisetum purpureum* debido a su alto índice caulinar indicando mayor área foliar.
- En conclusión la especie vegetal más eficiente para realizar procesos de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados es la *Flemingia macrophylla* ya que esta presentó mayor concentración de metales bioacumulados en la parte vegetativa de las plantas. Esta especie tiene múltiples utilidades como: barreras vivas, forraje, incorpora materia orgánica y mejora la aireación del suelo; es decir facilita la restauración ambiental.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de especies autóctonas de la zona y semillas de plantas que hayan crecido en suelos contaminados con metales pesados, como es el caso de la ortiga brava (*Fleurya aestuans*), sugerimos estudiarla en futuros procesos de fitorremediación ya que en nuestra investigación creció en la mayoría de bioensayos como maleza.
- En el caso de que las plantas utilizadas en la investigación produzcan semillas es recomendable su recolección y almacenamiento para un posterior tratamiento de suelos contaminados ya que estas deben tener un eficiente desempeño en la absorción y bioacumulación de metales pesados en comparación con sus plantas madres.
- Una vez culminada la fitorremediación se sugiere tener sistemas de disposición final para las plantas los cuales podrían ser: incineración y reciclado de los residuos.

BIBLIOGRAFÍA

- Azpilicueta, C., Pena, L. y Gallego, S.** "Los Metales y las Plantas: Entre la Nutrición y la Toxicidad". *Ciencia Hoy* [en línea], vol. 20, (2010) pp. 14,15. ISSN 03778398. DOI 10.1016/j.marmicro.2007.08.003. Disponible en: <http://www.cienciahoy.org.ar/ch/ln/hoy116/Metalesplantas.pdf>.
- Baker, A.J.M.** "Accumulators and Excluders - Strategies in the Response of Plants to Heavy Metals". *Journal of Plant Nutrition*, vol. 3, (1981) pp. 643-654. ISSN 15324087. DOI 10.1080/01904168109362867. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/245161988_Accumulators_and_Excluders_Strategies_in_Response_of_Plants_to_Heavy_Metals
- Baker, A.J.M. MCGRATH, S.P., REEVES, R.D. y SMITH, J.A.C.** "Metal hyper accumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal polluted soils". *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. s.n. (1999), pp. 122. ISBN 1566704502. Disponible en: <https://www.neuroscience.ox.ac.uk/publications/50247>
- Ballesteros, J.** "Determinación de la eficacia de *Azolla caroliniana* como matriz de hiperacumulación de metales pesados cuantificados" [en línea]. *Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito*. Ecuador (2011), pp. 7,8 Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5046/1/UPS-QT02529.pdf>.
- BARRIO VEGA, N.** [sin fecha]. "Metales pesados en suelos y sus efectos sobre la salud". [en línea]. S.l.: *Universidad Complutense*. pp. 2 Disponible en: http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NOELIA_BARRIO_VEGA.pdf.
- Becerril, J.M., Barrutia, O., García-Plazaola, J.I., Hernández, A., Olano, J.M. y Garbisu, C.** "Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación". *Ecosistemas* [en línea], (2010) pp. 50. ISSN 1697-2473. DOI 10.7818/re.2014.16-2.00. Disponible en: [https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/7668/1/ECO_16\(2\)_06.pdf](https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/7668/1/ECO_16(2)_06.pdf).
- Bemhaja, M.** "Pasto Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.)" *Inia Lambaré*. [en línea], Uruguay (2000) vol. 72, pp. 1,4. Disponible en: http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos_compartidos/111219240807160841.pdf.
- BERENGUER, C.** "Uso de enmiendas y especies de plantas con potencial valor añadido en la recuperación de suelos contaminados con elementos traza" [en línea]. *Universidad de las islas baleares*. Palma de Mallorca, (2017), pp. 4-6. Disponible en: http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/146307/tfm_2016-17_MBPM_cbm294_1241.pdf?sequence=1.

- REGISTRO OFICIAL 449.** *Constitucion de la republica del Ecuador 2008* [en línea], 2011. Ecuador: s.n. Disponible en: <https://www.habitatyvivienda.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/06/Constitucion-de-la-Republica-del-Ecuador.pdf>.
- CUEVAS, P.A.D.** "Transferencia de metales de suelo a planta en áreas mineras: Ejemplos de los Andes peruanos y de la Cordillera Prelitoral Catalana" [en línea]. *Universidad de Barcelona*. España (2010), pp. 8-14. Disponible en: [file:///C:/Users/Toshiba/Downloads/PDC_TESIS\(1\).pdf](file:///C:/Users/Toshiba/Downloads/PDC_TESIS(1).pdf).
- Del Águila Juárez, P., Lugo De La Fuente, J. Y Vaca Paulin, R.** "Determinación de factores de enriquecimiento y geoacumulación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, y Zn en suelos de la cuenca alta del río Lerma". *Ciencia Ergo Sum*, vol. 12, (2005) pp. 156-158.
- GALÁN HUERTOS, E. y ROMERO BAENA, A.** "Contaminación de Suelos por Metales Pesados". *Macla* [en línea], (2008). pp. 48,49. ISSN 1885-7264. DOI 10.1520/C0033-03. Disponible en: http://www.ehu.es/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf.
- GARCÍA, S.** "Estudios de especiación de arsénico y acumulación de metales en muestras de interés medioambiental". *Universidad Politécnica de Madrid* [en línea], España (2013), pp. 16-19. Disponible en: http://oa.upm.es/15311/1/SARA_GARCIA_SALGADO.pdf.
- González Chávez, M. del C.Á.** "Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos". *Terra Latinoamericana*, vol. 23, (2005) pp. 29-30. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57323104>
- González, R., Anzúles, A., Vera, A. y Riera, L.** "Manual de pastos tropicales para la amazonía ecuatoriana". *Manual N°33 INIAP* [en línea]. Ecuador: s.n., pp. 2-4. Disponible en: http://nutriciondebovinos.com.ar/MD_upload/nutriciondebovinos_com_ar/Archivos/manual-pastos-tropicales-rae_www.pdf.
- Registro Oficial N° 517.** *Ley de Minería* [en línea], 2009. Ecuador: s.n. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/06/Ley-de-Mineria.pdf>.
- MEDINA, K. y MONTALVO, Y.** "Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el *Juncus arcticus* Willd. Y *Cortaderia rudiusscula* Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero alianza - Ancash" *Universidad nacional Santiago Antúnez de Mayolo*, Perú (2013), pp. 17-23.
- MENDOZA, N.** "Acumulación de metales pesados en *beta vulgaris* l. y *lolium perenne* l. de suelos de cuemanco" [en línea]. *Universidad Nacional Autónoma de México*. México (2014), pp. 6,7. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_martell_mendoza.pdf.
- Metales pesados en la salud.** [en línea], [sin fecha]. Disponible en: http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/4_metales_pesados_salud.pdf.
- Metales pesados en los cultivos.** [en línea], [sin fecha]. Disponible en: http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/4_metales_pesados_salud.pdf.

digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/6_metales_pesados_cultivos.pdf.

Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados [en línea], 2015. Ecuador: s.n. Disponible en: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112181.pdf>.

Ortiz, B., Sanz, J., Dorado, M. y Villar, S. "Técnicas de recuperación de suelos contaminados". *Universidad de Alcalá. Dirección General de ...* [en línea], (2007), pp. 12;18. Disponible en: file:///C:/Users/Toshiba/Desktop/CITAR/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_contaminados.pdf.

Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C. y Campos, A. "Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera: Heavy metals pollution in soils damaged by mining industry". *Ecología Aplicada* [en línea], (2006) vol. 5, pp. 150,151. ISSN 1726-2216. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v5n1-2/a20v5n1-2.pdf>.

Rodríguez Ortiz Juan Carlos , Rodríguez Fuentes Humberto, R.G.& L.M.J.L. "Capacidad De Seis Especies Vegetales Para Acumular Plomo En Suelos Contaminados". *Revista Fitotecnia Mexicana* [en línea], (2006). vol. 29, pp. 242,243. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/610/61029308/>.

Rodríguez Serrano, M., Martínez-De La Casa, N., Romero Puertas, M.C., Del Rio, L. a. y Sandalio, L.M. "Toxicidad del Cadmio en Plantas". *Ecosistemas* [en línea], (2008). pp. 139-141. ISSN 1697-2473. DOI 10.7818/re.2014.17-3.00. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/16362081.pdf>.

Vera, A. y Riera, L. "Desarrollo de alternativas silvopastoriles para rehabilitar pastizales en zona norte de la región amazónica ecuatoriana". *INIAP* [en línea], pp. 7-8. Disponible en: http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/DESARROLLO_ALTERNATIVAS_SILVO_PASTORILES_REHABILITAR_PASTIZALES_ZONA_NORTE_REGIÓN_AMAZONICA_ECUATORIANA.pdf.

ANEXOS

Anexo A: Registro Fotográfico

