



UNIVERSIDAD NACIONAL “SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO”

ESCUELA DE POSTGRADO

EFECTO DE TRES EXTRACTOS HUMICOS EN LA REMOCIÓN DEL ZINC, COBRE, PLOMO Y CADMIO EN SUELOS FRANCO ARENOSOS CONTAMINADOS, HUARAZ – 2016.

Tesis para optar el grado de Doctor
en Ingeniería Ambiental

PEDRO ANTONIO VARGAS LINARES

Asesor: Dr. PEDRO LIBERATO VALLADARES JARA

Huaraz - Ancash - Perú

2021

N° de Registro: **TE0083**

FORMATO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN, CONDUCENTES A OPTAR TÍTULOS PROFESIONALES Y GRADOS ACADÉMICOS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

1. Datos del autor:

Apellidos y Nombres: _____

Código de alumno: _____ Teléfono: _____

E-mail: _____ D.N.I. n°: _____

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Tipo de trabajo de Investigación:

Tesis

Trabajo de Investigación

Trabajo Académico

3. Trabajo de Investigación para optar el grado de:

4. Título del trabajo de Investigación:

5. Escuela: _____

6. Programas: _____

7. Asesor:

Apellidos y nombres _____ D.N.I n°: _____

E-mail: _____ ID ORCID: _____

8. Referencia bibliográfica: _____

9. Tipo de acceso al Documento:

Acceso público* al contenido completo. Acceso

restringido** al contenido completo

Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Santiago Antúnez de Mayolo una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglos de forma en la obra y difundirlo en el Repositorio Institucional, respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso de que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:



10. Originalidad del archivo digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.



Firma del autor

11. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para las investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.



El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI "Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Recolector Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA".

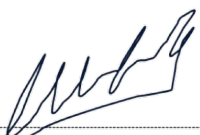
12. Para ser verificado por la Dirección del Repositorio Institucional

Fecha de Acto de sustentación:

Huaraz,

Firma:




Varillas William Eduardo
Asistente en Informática y Sistemas

- UNASAM -

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**** Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.



UNIVERSIDAD NACIONAL
"SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO"
ESCUELA DE POSTGRADO

ACTA VIRTUAL DE SUSTENTACION DE TESIS

Los miembros del Jurado de Sustentación de Tesis Doctoral, que suscriben, reunidos en la Plataforma Microsoft Teams de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" para calificar la sustentación de la **Tesis Doctoral** presentada por el:

Magíster : **PEDRO ANTONIO VARGAS LINARES**

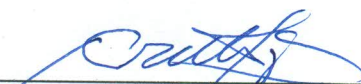
Título : **"EFECTO DE TRES EXTRACTOS HUMICOS EN LA REMOCIÓN DEL ZINC, COBRE, PLOMO Y CADMIO EN SUELOS FRANCO ARENOSOS CONTAMINADOS, HUARAZ-2016"**

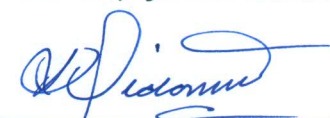
Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas y observaciones finales, lo declaramos:

Aprobado, con el calificativo de Quince (15.0)

De conformidad al Reglamento General a la Escuela de Postgrado y al Reglamento de Normas y Procedimientos para optar los Grados Académicos de Maestro y Doctor, queda en condición de ser aprobado por el Consejo de la Escuela de Postgrado y recibir el Grado Académico de DOCTOR en INGENIERÍA AMBIENTAL a otorgarse por el Honorable Consejo Universitario de la UNASAM.

Huaraz, 15 de octubre del 2021


Dr. Alfredo Walter Reyes Nolasco
PRESIDENTE


Dr. Prudencio Celso Hidalgo Camarena
SECRETARIO


Dr. Pedro Liberato Valladares Jara
VOCAL

MIEMBROS DEL JURADO

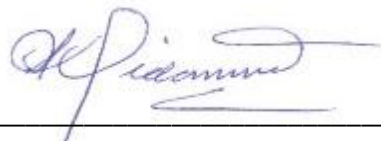
Doctor Alfredo Walter Reyes Nolasco

Presidente



Doctor Prudencio Celso Hidalgo Camarena

Secretario



Doctor Pedro Liberato Valladares Jara

Vocal



ASESOR

Doctor Pedro Liberato Valladares Jara



AGRADECIMIENTO

- A la Escuela de Post Grado de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo y a toda la plana docente por ser parte de mi perfeccionamiento profesional
- Al Dr. Pedro Valladares Jara por su invaluable apoyo en el asesoramiento y ejecución del presente trabajo de investigación.
- A mi esposa Gladys y a mis hijos Sergio, Karen, Jessica y Reny por el grandioso apoyo moral para afrontar las vicisitudes de la vida y mi consolidación como padre y profesional.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación, en primer lugar, a Dios, nuestro padre celestial por haber trazado para mí un destino especial; asimismo dedico este trabajo de investigación a mis padres, quienes descansan en la gloria de nuestro señor; dedicación especial para mi familia, mis hermanos y a todos mis familiares.

ÍNDICE

	Página
Resumen.....	IXi
Abstract.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo I.	
PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3-6
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.2. OBJETIVOS.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4. DELIMITACIÓN.....	6
Capítulo II	
MARCO TEÓRICO.....	7-53
2.1. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN.....	7
2.2. BASES FILOSÓFICAS Y EPISTEMOLÓGICAS.....	11
2.3. BASES TEÓRICAS.....	17
2.4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	50
2.5. HIPÓTESIS.....	52
2.6. VARIABLES.....	52
Capítulo III	
METODOLOGIA.....	54-75
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	54
3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	54
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	56
3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN.....	62
3.5. PLAN DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	75
Capítulo IV.	
RESULTADOS.....	76
4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	76
4.2. PRUEBA DE HIPÓTESIS.....	79
4.3. DISCUSIÓN.....	85
CONCLUSIONES.....	102-103
RECOMENDACIONES.....	104
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104
ANEXOS.....	119

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características físicas del suelo agrícola. -----	66
Tabla 2. Características químicas del suelo agrícola. -----	67
Tabla 3. Características físicas y químicas de las fuentes de materia orgánica. -	70
Tabla 4. Contenido de sustancias húmicas de las fuentes de materia orgánica.--	70
Tabla 5. Características químicas del material de relave minero. -----	71
Tabla 6. Características físicas del sustrato utilizado en el experimento. -----	72
Tabla 7. Características químicas del sustrato utilizado en el experimento. ----	73
Tabla 8. Concentración de metales pesados del sustrato utilizado, antes del experimento y su comparativo con ECA suelo. -----	74
Tabla 9. Resultados del análisis de Zn, Cu, Pb y Cd, en el sustrato experimental, al final del experimento. -----	76
Tabla 10. Concentración de Zn, Cu, Pb y Cd, en sustancias húmicas, antes del experimento. -----	76
Tabla 11. Variables biométricas obtenidas después del experimento. -----	77
Tabla 12. Determinación promedio del porcentaje de germinación relativo, crecimiento de radícula relativo e índice de toxicidad de los metales, por tratamientos. -----	77
Tabla 13. Medición de metales pesados absorbidos por la cebada al final del experimento. -----	78
Tabla 14. Factor de bioacumulación (FB) para el Zn, Cu, Pb y Cd por tratamientos. -----	78
Tabla 15. Análisis de varianza de la concentración de Zn, Cu, Pb y Cd, en el sustrato, antes y después del experimento. -----	79
Tabla 16. Análisis de varianza para altura de planta y número de tallos. -----	79
Tabla 17. Prueba de Tukey para altura de planta. -----	80
Tabla 18. Prueba de Tukey para número de tallos. -----	80
Tabla 19. Análisis de varianza para peso verde, peso seco y peso de raíces. ----	81
Tabla 20. Prueba de Tukey para peso verde. -----	81
Tabla 21. Prueba de Tukey para peso seco (g) -----	82
Tabla 22. Prueba de Tukey para peso de raíces. -----	82
Tabla 23. Análisis de varianza para índice de toxicidad. -----	82
Tabla 24. Prueba de Tukey para Índice de toxicidad -----	83
Tabla 25. Prueba de t de Student para bioacumulación de Zn, Cu, Pb y Cd. ----	84

Lista de Anexos

Anexo 1 Foto preparando los extractos húmicos	120
Anexo 2 Foto de los extractos húmicos preparados, según fuente orgánica.....	120
Anexo 3 Foto de la instalación de experimento: Aplicación de extractos húmicos.	121
Anexo 4 Foto que muestra los resultados por tratamiento, véase el tratamiento T5.	121

Anexo 5 Foto donde se observa la respuesta del cultivo bioindicador según tratamientos.	122
Anexo 6 Foto mostrando trabajo de gabinete, peso verde.	122
Anexo 7 Informe de laboratorio, relave minero.	123
Anexo 8 Informe de laboratorio: Caracterización del sustrato en estudio.	124
Anexo 9 Concentración de metales pesados de suelo contaminado deliberadamente.	125
Anexo 10 Concentración de metales absorbidos por la planta de cebada por tratamiento.....	126
Anexo 11 Concentración de metales pesados en suelo contaminado, después del tratamiento.....	127
Anexo 12 Matriz de consistencia de la investigación.	128

RESUMEN

La presente investigación abordó el problema central de la contaminación de suelos por metales pesados en escenarios de acumulación de residuos sólidos. El objetivo central fue evaluar el efecto de tres extractos húmicos en la remoción del Zinc, Cobre, Plomo y Cadmio en suelos franco arenosos contaminados. Se estudiaron tres extractos húmicos extraídos mediante filtrado de fuentes orgánicas diferentes: humus formulado (**T1**), humus de lombriz (**T2**) y materia orgánica de bosques de quebrada (**T3**).

Se usó suelo agrícola contaminado deliberadamente con material de relave minero, como fuente de Zn, Cu, Pb y Cd. Como bioindicador se usó el cultivo de cebada, variedad UNA Centenario, para medir variables biométricas (altura de planta, N° de tallos, peso verde, peso seco y peso de raíces), además del índice de toxicidad y el factor de bioacumulación (FB).

El diseño de la investigación se realizó a través del método completamente al azar (DCA), con tres repeticiones, más dos testigos (suelo agrícola y sustrato experimental sin aplicación de extractos húmicos).

Los resultados evidenciaron diferentes efectos de tratamientos en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd. Se evidenció mejores resultados de remoción de metales con el extracto húmico de humus de lombriz (**T2**), en la cual, el bioindicador tuvo una mejor condición fenotípica, así como el menor factor de bioacumulación. Se encontró una evidente afinidad y remoción del **Zn y Cu**, en el siguiente orden: **T2>T3>T1**. Para el **Pb y Cd**, se evidenció este otro orden: **T3>T2>T1**.

La conclusión central de la investigación fue que, la remoción de los metales pesados siguió el siguiente orden de afinidad con los extractos: **Cd > Pb > Cu > Zn**. Se obtuvieron mejores resultados en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd con el extracto húmico de humus de lombriz, seguido de la performance del extracto húmico de materia orgánica de bosque de quebrada; sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios para los tres extractos estudiados.

Palabras clave: metal pesado, extractos húmicos, remoción de metales.

ABSTRACT

The present investigation addressed the central problem of soil contamination by heavy metals in solid waste accumulation scenarios. The main objective was to evaluate the effect of three humic extracts in the removal of Zinc, Copper, Lead and Cadmium in contaminated sandy loam soils. Three humic extracts extracted by filtering from different organic sources were studied: formulated humus (T1), earthworm humus (T2) and organic matter from creek forests (T3).

Agricultural soil deliberately contaminated with mining tailings material was used as a source of Zn, Cu, Pb and Cd. As a bioindicator, the cultivation of barley, variety UNA Centenario, was used to measure biometric variables (plant height, No. of stems, green weight, dry weight and root weight), in addition to the toxicity index and the bioaccumulation factor (FB).

The research design was carried out through the completely random method (DCA), with three repetitions, plus two controls (agricultural soil and experimental substrate without application of humic extracts

The results showed different effects of treatments in the removal of Zn, Cu, Pb and Cd. Better results of metal removal were evidenced with the humic extract of earthworm humus (T2), in which the bioindicator had a better phenotypic condition, as well as the lowest bioaccumulation factor. An evident affinity and removal of Zn and Cu was found, in the following order: T2> T3> T1. For Pb and Cd, this other order was evidenced: T3> T2> T1.

The central conclusion of the research was that the removal of heavy metals followed the following order of affinity with the extracts: Cd> Pb> Cu> Zn. Better results were obtained in the removal of Zn, Cu, Pb and Cd with the humic extract of earthworm humus, followed by the performance of the humic extract of organic matter from stream forest; however, the results were not satisfactory for the three extracts studied.

Key Words: heavy metal, humic extracts, metal removal.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los suelos con metales pesados es uno de los problemas que afronta la humanidad, es un proceso derivado de la acumulación excesiva de sustancias químicas de origen exógeno que afectan las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo. Los metales pesados pueden llegar a acumularse en las partes comestibles de los cultivos destinados al consumo humano o para alimento de animales y, consecuentemente afectar la salud de las personas.

A lo largo del recorrido del río Santa, y en diferentes ríos tributarios existen una serie de vertimientos, relaves y pasivos mineros que son fuentes contaminantes de estas aguas, que al ser utilizadas en el riego agrícola genera acumulación de metales pesados en los suelos, e incluso podría ser absorbidos por los cultivos, que al ser consumidos puede causar daños a la salud de las personas.

La exposición de rocas por la desglaciación está generando aguas acidas que se vierten al río Santa. Walsh (Citado por Reyes 2018), encontró en el río Quilcay, próximo a su desembocadura en el río Santa, concentraciones de 82, 27, 34, y 14 mg/L de plomo, cadmio, níquel y uranio respectivamente.

La presencia de metales pesados en los cultivos es una preocupación en los organismos mundiales y nacionales, debido a los efectos de estos en la salud de las personas; en este sentido la Unión Europea a través de Reglamento N°

488/2014 de la Comisión y el Reglamento (CE) N° 1881/2006, reglamentan los valores de contenido máximo de cadmio y plomo en hortalizas y el espárrago, exigencia que ha creado preocupación en el agro peruano.

Para el trabajo experimental se utilizó el Diseño Completo al Azar (DCA), con tres tratamientos y dos testigos; para el testigo 1 se utilizó suelo agrícola sin tratamiento y el testigo 2 correspondió al sustrato experimental sin tratamiento. Los tratamientos en estudios fueron extractos húmicos obtenidos de: 1) Extractos húmicos formulados; 2) Extracto húmico de humus de lombriz y 3) Extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada. Se utilizó el cultivo de cebada para medir la respuesta de parámetros biométricos: altura final de plantas (cm); número de tallos (macollos); peso verde (g), peso seco (g) y peso de raíces (g); además, se evaluó el Índice de toxicidad y el Factor de bioacumulación (FB).

Se evidenció mejores resultados de remoción de metales con el extracto húmico de humus de lombriz (T2), en la cual, el bioindicador tuvo una mejor condición fenotípica, así como el menor factor de bioacumulación. Se encontró una evidente afinidad y remoción del Zn y Cu, en el siguiente orden: T2>T3>T1. Para el Pb y Cd, se evidenció este otro orden: T3>T2>T1.

CAPITULO I.

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento y formulación del problema.

La contaminación de los suelos es un serio problema que preocupa a las organizaciones mundiales como la FAO; pero la preocupación es mayor aun, cuando estos metales pesados pueden entrar en la cadena alimenticia a través de los cultivos y afectar seriamente la salud de las personas que la consumen.

A nivel regional, la presencia de actividad minera y la existencia de vertimientos, relaves y pasivos mineros a lo largo del rio Santa y sus tributarios, constituyen fuentes contaminantes de estas aguas, que al ser utilizadas en el riego agrícola genera acumulación de metales pesados en los suelos, e incluso podría ser absorbidos por los cultivos, que al ser consumidos puede causar daños a la salud de las personas.

El riego de absorción de los metales pesados por los cultivos es una problemática que constituye una gran preocupación en los organismos mundiales y nacionales, debido a los efectos de estos en la salud de las personas; en este sentido la Unión Europea a través de Reglamento N° 488/2014 de la Comisión y el Reglamento (CE) N° 1881/2006, establecen valores en mg /kg de peso fresco como contenido máximo de cadmio y plomo en hortalizas y el espárrago, exigencia que ha creado preocupación en el agro peruano. En este mismo sentido, la Unión Europea, en el 2013 enmienda el

Reglamento Europeo 1881/2016, en el cual se establece niveles máximos de cadmio para el chocolate y productos derivados del cacao.

Toda esta preocupación ha conllevado a la ejecución de esta investigación, con la finalidad de tener conocimiento técnico y científico alternativo, con la utilización de extractos húmicos para la remoción e inmovilización de metales pesados en el suelo contaminados, al alcance de los productores, técnicos y profesionales e incluso como mecanismo de adaptación al cambio climático, del cual se deriva, entre otros aspectos, la contaminación de los suelos con metales pesados.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de tres extractos húmicos en la remoción del Cinc, Cobre, Plomo y Cadmio en suelos franco arenosos contaminados, utilizando como bioindicador al cultivo de cebada.

1.2.2. Objetivos Específicos:

- Determinar el efecto de los extractos húmicos formulados (Humi riego - 15), en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada.

- Determinar el efecto del extracto húmico del humus de lombriz en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada.
- Determinar el efecto del extracto húmico de materia orgánica de bosques de quebrada en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada.

1.3. Justificación

Este trabajo de investigación se realizó para abordar el problema de la contaminación de suelos por metales pesados, que es un tema de mucha preocupación de diferentes organismos mundiales, debido al peligro que representa cuando estos metales son absorbidos y acumulados en órganos comestibles de los cultivos, que al ser consumidos podría afectar la salud de las personas.

El incremento paulatino de la contaminación de los suelos y, los escasos trabajos de investigación orientados al tratamiento y remoción de los metales pesados con la utilización de alternativas orgánicas justifica la realización del presente trabajo de investigación, con el cual se planteó generar conocimientos, probando alternativas orgánicas de fácil acceso y económicamente viables, que sirva a la población agrícola, profesionales dedicados a la producción sana de alimentos e incluso puede servir como referencia a investigadores para emprender investigaciones similares.

Se justifica, asimismo, porque se estaría aportando nuevos conocimientos que servirá a los agricultores, técnicos y profesionales dedicados a la producción de alimentos para afrontar competitivamente la calidad e inocuidad de alimentos exigido por el mercado de consumo nacional e internacional.

En tal sentido, en este trabajo se investigó la acción de los extractos húmicos de la materia orgánica en la remoción de los metales pesados, básicamente del Zinc, Cobre, Plomo y Cadmio, como alternativa viable para remover y reducir la disponibilidad de estos metales para las plantas cultivadas.

1.4. Delimitación

La investigación se realizó en la región Ancash - Perú, provincia y distrito de Huaraz, ubicada a una altitud de 3052 msnm, caracterizada por temperatura máxima promedio de 20 °C y una temperatura mínima promedio de 4 °C; con 65 % de humedad relativa promedio. El experimento se realizó en los ambientes del Servicio Nacional de Sanidad Agraria, ubicado en la ciudad de Huaraz, en el año 2016.

Se estudió el efecto de tres extractos húmicos de tres fuentes orgánicas: humus comercial, humus de lombriz y materia orgánica de bosque de quebrada para la remoción del Zinc (Zn), Cobre (Cu), Plomo (Pb) y Cadmio (Cd).

Capítulo II.

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

La remediación de los suelos contaminados es una técnica que se viene desarrollando con mucho éxito; sin embargo, a decir de muchos expertos, la remediación convencional resulta ser muy costosa. Durante mucho tiempo los investigadores han probado diferentes alternativas de remediación de suelos con metales pesados; por ejemplo Pavel (2008), en su Tesis titulada “Implementación de una técnica para el aprovechamiento de los alcaloides del chocho y posterior complejación de metales pesados”, demostró que los alcaloides contenidos en las aguas de desmargado del chocho forman complejos con metales como el cadmio, cromo y plomo, obteniendo valores superiores al 70% de reducción de metales por reacciones de precipitación durante las pruebas de ensayo; asimismo, este autor concluye que los metales reaccionan con los alcaloides del chocho, formando precipitados de color amarillo en el cromo y, blanco en el cadmio y plomo, lo que afirma su hipótesis planteada: La utilización de los alcaloides obtenido de las aguas de desmargado del chocho compleja y reduce metales pesados en aguas servidas

Nieto et al. (2011), en su publicación denominada: “Estudio de la interacción de los ácidos húmicos Cu^{+2} , Pb^{+2} , Hg^{+2} , Co^{+2} y Cd^{+2} , y la determinación de sus constantes de equilibrio por electroforesis capilar”, encontraron una alta

interacción de los ácidos húmicos (AH) con el cobre (Cu^{+2}); efecto similar encontraron entre el plomo (Pb^{+2}) y los ácidos húmicos, pero con una intensidad menor en relación al encontrado con el cobre; asimismo estos autores, encontraron una débil interacción entre el mercurio (Hg^{+2}) y el ácido húmico (AH); resultado similar encontraron con el Cd^{+2} y Co^{+2} . Los autores concluyen que la afinidad de los metales pesados para formar complejos AH – Metal, decrece a valores de pH de 4 y 8.5, en el siguiente orden: $\text{Cu}^{+2} > \text{Pb}^{+2} > \text{Hg}^{+2} > \text{Co}^{+2} > \text{Cd}^{+2}$; concluyen también, indicando que la interacción AH – Metal es diferente para cada uno de los metales y que la interacción del ion positivo con el AH es selectiva. La conclusión de este estudio nos indica que las sustancias húmicas ejercen un alto nivel de complejación con los metales pesados que puede ser utilizado en la remoción de metales de suelos contaminados.

Por otro lado, Bravo y Arboleda (2014), en su estudio titulado “Efecto de la calidad de la materia orgánica asociada con el uso y manejo de suelos en la retención de cadmio, en sistemas altoandinos de Colombia”, concluyen, entre otros aspectos, que la calidad de la materia orgánica tiene efecto significativo en dichos procesos. Una mejor calidad redundaría en menor movilidad, previniendo la contaminación de aguas subterráneas y la toxicidad por bioacumulación. Asimismo, concluyen en que en la materia orgánica humificada (MOH) los ácidos húmicos tienen un papel primordial en la retención de Cd, formando enlaces fuertes en sus grupos carboxílicos y fenólicos, con mayor capacidad y fuerza de retención que el resto de fases

adsorbentes; mientras que los AF (ácidos fenólicos) movilizan el metal por fenómenos de complejación y solubilización; la conclusión de este estudio demuestra una vez más el efecto positivo de la materia orgánica y sus componentes humificados en la conformación de complejos, capaces de inmovilizar los metales pesados y evitar su fitotoxicidad e impactos en el ambiente.

Cortés, Bravo, Martín y Menjivar (2014), en el estudio denominado “*Adsorción de metales pesados en andisoles, vertisoles y ácidos húmicos*”, donde se utilizaron suelos andisoles y vertisoles de zonas agrícolas de Colombia y ácidos húmicos extraídos de leonardita (como adsorbentes); asimismo utilizaron cinco metales (Ni, Cu, Zn, Cd y Pb), y cuatro concentraciones por cada metal seleccionadas; entre otros aspectos concluyen que la selectividad de adsorción por los metales con base en valores de K , sigue este orden de preferencia: para ácidos húmicos = Cd > Pb > Cu > Ni > Zn; para Andisoles = Pb > Cu > Cd > Zn > Ni; y para Vertisoles = Cd > Pb > Cu > Ni > Zn. La fuerza de retención (n) en ácidos húmicos fue = Pb > Zn > Cd > Cu > Ni; en Andisoles fue = Cu > Ni > Zn > Pb > Cd; y en Vertisoles fue = Zn > Ni > Cu > Pb > Cd; comportamientos que permiten determinar un posible uso potencial de cada adsorbente, para inmovilizar metales en suelos contaminados.

Stevenson (citado por Reyes y Barreto 2011), indica que los enlaces de los metales en el suelo obedecen a atracciones electrostáticas, interacciones ion -

dipolo y formación de complejos; asevera también que, de manera general, en el suelo los metales pesados pueden unirse a diferentes ligando orgánicos e inorgánicos para formar complejos, razón por la que los cationes polivalentes desempeñan un importante papel en la agregación y coagulación de materia orgánica y coloides minerales. La estabilidad de los complejos metal - ligandos orgánicos está determinada por el número y naturaleza química de los átomos que forman el enlace con el ion metálico, el número de anillos formados, el número de átomos en el anillo, la naturaleza del ion metálico, la concentración de metales y ligandos, el pH y la fuerza iónica; sin embargo, los parámetros que influyen significativamente en la estabilidad del complejo son el pH y las características químicas de la materia orgánica del suelo.

Skodowski, Maciejewska y Kwiatkowska (2006) en la investigación denominada “*The effect of organic matter from Brown coal on bioavailability of Heavy metals in contaminated soils*” cuyo objetivo del estudio fue demostrar la viabilidad del uso de materia orgánica de preparaciones derivadas del carbón para reducir la biodisponibilidad de cadmio, plomo y zinc a las plantas superiores; para lo cual utilizaron como planta indicadora al centeno; la dosis utilizada fue de fue de 180, 360 y 720 g por maceta, que es equivalente a 5, 10, 20 toneladas de carbono orgánico por hectárea, en suelos contaminados artificialmente con soluciones de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ y ZnSO_4 . Los resultados obtenidos por estos investigadores demostraron que la materia orgánica en estudio provocó una disminución notable en el

contenido de Cd, Pb y Zn en las plantas de centeno. La influencia positiva era visible para todas las dosis de las concentraciones aplicadas al suelo. La acumulación de Cd, Pb y Zn en las distintas partes de plantas de centeno dependía de la dosis o concentración de metales. En la dosis más alta utilizada (720 g por maceta), el contenido de metales pesados en el centeno era la menor de todos los tratamientos ensayados. En conclusión, los resultados obtenidos demuestran que los metales pesados son inmovilizados por las sustancias húmicas, impidiendo ser absorbidos por las raíces del centeno.

Como puede observarse, existe muchos trabajos de investigación y publicaciones que concluyen sobre la gran capacidad de las sustancia húmicas para inmovilizar metales en suelos contaminados, debido a sus características físicas y químicas encontradas en los diferentes estudios; constituyéndose como una alternativa viable y de bajo costo para la remoción de metales contaminantes que afectan la calidad física, química y biológica de los suelos agrícolas, impactos que se puede extender a los cultivos y por ende afectar la salud de las personas y animales que consumen cultivos como alimentos.

2.2. Bases filosóficas y epistemológicas

2.2.1. Bases filosóficas.

La naturaleza y todos sus componentes ambientales se rigen por leyes y principios que la mantienen en un extraordinario equilibrio dinámico. Asimismo, la naturaleza de los suelos se rige por leyes y principios, donde de manera armoniosa interactúan los componentes físicos, químicos y biológicos

sobre de los cuales dependen la calidad de los servicios ecosistémicos de amplio valor ambiental para la sobrevivencia de la humanidad.

En ese sentido, las sociedades del conocimiento se valen de la ciencia y la tecnología para entender el comportamiento del mundo y aprovechar los recursos naturales en la forma que actualmente se utilizan (Barahona, 2010, citado por Ruiz, Hernández y Ruiz, 2015). Igualmente, es común llamar ciencia al prejuicio y práctica del dominio humano sobre la naturaleza, justificando la necesidad descubrir sus leyes, “secretos”; o bien, “desocultar” la naturaleza (Heidegger 1993, citado por Torres, 2015).

Existe una trama de relaciones entre la especie humana y la naturaleza, mediante su ser, pensamiento y acción; estas están íntimamente interrelacionadas y evolucionan de acuerdo con los procesos de adaptación a los incesantes cambios que se presentan en las condiciones naturales (Acot 2005, citado por Torres, 2015).

El hombre, ha modificado los ecosistemas terrestres y ha cambiado a lo largo de la historia el clima planetario provocando la respuesta de la naturaleza. Los problemas ambientales son reales, se deben enfrentar y resolver de manera urgente e integral, y entre estos se cuenta a la contaminación de los recursos como el aire, el agua y el suelo que lo afecta la erosión hídrica o eólica (Ordóñez, 2010, citado por Ruiz, et al., 2015).

Entender los orígenes y efectos de la contaminación de suelos con metales pesados, conlleva esta investigación a buscar alternativas de solución en el marco filosófico de las ciencias del suelo como objeto de la investigación.

2.2.2. Bases epistemológicas

La degradación de los suelos es un enfoque que suele referirse a la pérdida de las condiciones físicas, químicas y biológicas y, por ende, a la pérdida de la respuesta productiva de este recurso importante.

La contaminación de los suelos es un problema creciente a nivel mundial y a nivel nacional; en este marco la ciencia ha desarrollado técnicas y métodos para recuperar los suelos degradados por contaminación; sin embargo, no ha sido capaz de dar solución a este problema, que pone en riesgo la seguridad alimentaria de las naciones, especialmente de las más vulnerables; evidenciando su baja efectividad para dar respuesta a esta situación prioritaria en las agendas científicas, sociales y económicas.

El acervo de conocimientos sobre la contaminación de suelos por metales pesados y los métodos de recuperación es diverso. Luque, (citado por Aguilar, Bolaños, Villamar, 2017), indican que mediante el conocimiento tomamos noticia del exterior, captamos información de los demás entes; asimismo, mediante la acción modificamos el exterior, influimos en los demás entes.

Actualmente la contaminación por metales pesados está siendo considerada uno de los problemas ambientales más serios, principalmente en áreas que tienen una gran actividad antrópica (Soares, 2010). Para el 2007 se estimó que la contaminación por metales pesados afectaba al 12% de las tierras

agrícolas del mundo (Moffat, citado por Vargas, Martínez, Ortiz y López 2007).

Las actividades antrópicas se constituyen como fuentes de elementos contaminantes, a través de las emisiones y/o vertidos que son depositados en la atmósfera y cuerpos de agua, los que a su vez se depositan en el suelo (Ortiz, Sanz, Dorado y Villar (2007).

Las causas principales de la contaminación del suelo con metales pesados (plomo, cadmio, cromo, zinc, cobre, níquel, mercurio, manganeso, selenio y arsénico, entre otros) son el riego con agua de cauces y aguas residuales contaminadas por la industria, la aplicación de residuos sólidos contaminados y el uso de antiguos terrenos industriales contaminados por los vertidos de aceite y desechos industriales suelo (Henk y Lock, 2000).

Galán y Romero (2008), precisan que la presencia en los suelos de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos (contaminantes) es un tipo especial de degradación que se denomina contaminación. El contaminante está siempre en concentraciones mayores de las habituales (anomalías) y en general tiene un efecto adverso sobre algunos organismos.

La presencia de metales pesados en suelos agrícolas, generalmente afectan a la calidad de los órganos cosechable; asimismo, la presencia de estos elementos en los frutos puede ocasionar una serie de trastornos en la salud de las personas si los consumen por encima del valor límite tolerable (Vega, 2021).

Actualmente, existen técnicas para remover los metales pesados en suelos contaminados (Ortiz, Sanz, Dorado y Villar, 2007); distinguiéndose las siguientes técnicas:

- Técnicas de contención, que aíslan el contaminante en el suelo sin actuar sobre él, generalmente mediante la aplicación de barreras físicas en el suelo.
- Técnicas de confinamiento, que reducen la movilidad de los contaminantes en el suelo para evitar su migración actuando directamente sobre las condiciones fisicoquímicas bajo las que se encuentran los contaminantes.
- Técnicas de descontaminación, dirigidas a disminuir la concentración de los contaminantes en el suelo.

En este mismo contexto, los suelos contaminados por metales pesados o sales pueden recuperarse in situ añadiéndoles sustancias orgánicas e inorgánicas. La adición de carbonatos, zeolitas, fosfatos, minerales de hierro, bentonitas, hidróxido cálcico, compost o levaduras también ha sido empleada para inmovilizar y reducir la biodisponibilidad de metales tóxicos como el Pb, U, As, Zn, Ni, Sr, Cu y Cd (Ortiz, et al., 2007).

Los experimentos en campo indican la eficacia de estos tratamientos de inmovilización in situ, sin embargo, existen dudas sobre si estos mecanismos de recuperación son permanentes o reversibles en el tiempo. Pero, si las enmiendas promueven el secuestro de metales en formas no lábiles en suelo,

atrapados en las estructuras de las arcillas o complejados por enlaces covalentes, entonces la inmovilización de los metales puede ser mucho más duradera (Adriano et al., 2004, citados por Ortiz, et al., 2007).

Basado en los aspectos epistemológico del suelo se han desarrollado teorías que fundamentan el complejo sistema de interacciones que se dan en este recurso natural; Violante, *et al.* (2010) indican que los componentes del suelo responsables de la sorción de elementos traza incluyen sustancias húmicas, filosilicatos, carbonatos y minerales de carga variable. En este mismo sentido, Galan y Romero (2008), afirman que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio o quelatos y que la adsorción puede ser tan fuerte que queden estabilizados, como el caso del Cu, o formen quelatos también muy estables, como puede pasar con el Pb y Zn.

Asimismo, basado en estas teorías epistemológicas se han realizado investigaciones diversas orientadas a la búsqueda de la solución al problema de los suelos contaminados con metales pesados. Según estudios realizados muchas sustancias orgánicas (ácidos húmicos, ácidos fulvicos) presentaron buena performance en la formación de complejos con alta afinidad, y que esta afinidad puede ser mayor con ciertos metales pesados contenidos en suelos contaminados (Pavel 2008; Cortés, Bravo, Martin y Menjivar, 2014; Bravo y Arboleda, 2014; Nieto et al. 2011).

Dado que, el basto acervo de conocimientos generados por diversas investigaciones, aún no ha sido capaz de dar solución al problema de la

contaminación por metales pesados, a nuestra opinión se debería también enfocar esta filosofía del conocimiento al sujeto, como ente generador de este problema.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Contaminación de suelos por metales pesados.

. Las principales fuentes antrópicas de contaminación por metales pesados lo constituyen: fertilizantes, pesticidas, aguas de riego contaminada, combustión de carbón y aceite, gases emitidos por vehículos de combustión interna, incineración de residuos urbanos e industriales, minería y fundiciones (Soares, 2010).

El término metal pesado es empleado en un grupo heterogéneo de elementos, incluidos metales, ametales y semimetales, que poseen una densidad atómica mayor que 5 g cm^{-3} y que están relacionadas con la contaminación ambiental y la toxicidad a los seres vivos. Algunos metales pesados, incluidos Cu, Zn, y Mn, son micronutrientes requeridos para una amplia variedad de procesos fisiológicos; sin embargo, estos pueden ser tóxicos en concentraciones elevadas. Además, metales pesados como Cd, Pb y Hg no tienen ninguna función conocida para las plantas y son altamente tóxicos, debido a su reactividad con los átomos de S y N presentes en los aminoácidos y las proteínas (Soares, 2010).

El mayor riesgo de los metales pesados radica en que pueden acumularse en las partes comestibles de los cultivos dedicados al consumo humano o para alimento de animales. Por lo general, las cantidades mayores de metales pesados se acumulan en las hojas, mientras que los contenidos más bajos se encuentran en las semillas. La absorción de metales pesados en las plantas (especialmente cadmio y plomo) varía según el pH del suelo (Ámbar, Sáel, Flores, Quevedo y Valdés, 2005).

Rulkens et al. (citados por Galán y Romero, 2008), indican que los contaminantes en suelos y sedimentos se pueden hallar en seis formas diferentes: como partículas (contaminantes particulados), como películas líquidas, adsorbidos, absorbidos, disueltos en el agua intersticial de los poros, o como fases sólidas en los poros. Para cada caso el comportamiento del contaminante es distinto.

Los elementos traza están presentes en relativamente bajas concentraciones (mg.kg^{-1}) en la corteza de la tierra, suelos y plantas. Muchos de ellos son esenciales para el crecimiento y desarrollo de plantas, animales y seres humanos, aunque también pueden ser tóxicos si se superan ciertos umbrales (Rulkens et al., 1995, citado por Galán y Romero, 2008). En general todos los elementos traza son tóxicos si se ingieren o inhalan en cantidades suficientemente altas y durante largos períodos de tiempo. Selenio, flúor y molibdeno son ejemplos de elementos que presentan un estrecho margen (del

orden de una poca ppm) entre los niveles de deficiencia y los tóxicos (Plant et al., citado por Galán y Romero, 2008).

Los metales tienden a acumularse en la superficie del suelo quedando accesibles al consumo de las raíces de los cultivos (Baird, citado por Puga *et al.*, 2006). Las plantas cultivadas en suelos contaminados absorben en general más oligoelementos y la concentración de éstos en los tejidos vegetales está a menudo directamente relacionada con su abundancia en los suelos, y especialmente en la solución húmeda (Kabata & Pendias, 2001, citado por Puga et al 2006).

Gulson et al. (citado por Puga *et al.* 2006) mencionan que excesivas concentraciones de metales en el suelo podrían impactar la calidad de los alimentos, la seguridad de la producción de cultivos y la salud del medio ambiente, ya que estos se mueven a través de la cadena alimenticia vía consumo de plantas por animales y estos a su vez por humanos.

Los elementos traza más abundantes en los suelos pueden clasificarse en cinco categorías, de acuerdo con la forma química en que se encuentran en las soluciones del suelo: cationes (Ag^+ , Cd^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Cu^{+2} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2}), metales nativos (Hg, V), oxianiones (AsO_4^{-3} , CrO_4^{-2} , MnO_4^{-2} , HSeO_3 , SeO_4^{-2}), halogenuros (F-, Cl-, Br-, I-), y organocomplejos (Ag, As, Hg, Se, Te, Tl). Estas categorías no se excluyen mutuamente, porque algunos elementos pueden aparecer con más de una forma. Normalmente, Cr, Ni, Pb, y Zn varían entre 1 - 1500 mg kg^{-1} , Co, Cu y As entre 0.1 y 250 mg kg^{-1} , y

con menores proporciones Cd y Hg entre 0.01 - 2 mg kg⁻¹ (Galán y Romero 2008).

La actividad industrial y minera arroja al ambiente metales tóxicos como plomo, mercurio, cadmio, arsénico y cromo; muy dañinos para la salud humana y para la mayoría de formas de vida. Por otro lado, las aguas residuales no tratadas, provenientes de minas y fábricas, llegan a los ríos, mientras los desechos contaminan las aguas subterráneas. Cuando se abandonan metales tóxicos en el ambiente, contaminan el suelo y se acumulan en las plantas y los tejidos orgánicos (Ámbar, Sánchez, Flores, Quevedo y Valdés, 2005).

Por otra parte, González, Román y Prieto (2005) indican que, en lugares donde se han venido utilizando aguas residuales para el riego agrícola, se reporta una tendencia creciente en las concentraciones de metales en los suelos, por efecto en el tiempo (años) de uso de esta agua, mostrando una mayor tasa anual de acumulación el Ni y Pb. Estos autores, también indican que el uso de fertilizantes ha venido a causar incremento de algunos compuestos en los suelos, que en ocasiones han causado algunos cambios en las características físico químico del suelo ya que contienen metales como impurezas y que pueden quedar disponibles para las plantas y provocar daños en las mismas.

Stevens, et al. (citado por González et al., 2005), estudiaron muestras de suelo con diferentes pH, contenido de arcilla y materia orgánica a los que se

añadieron concentraciones de plomo y cinc, en los que se sembraron lechuga y, a la cosecha se evaluaron nuevamente los suelos, encontraron que la concentración de metales había disminuido en el suelo, lo que puso de manifiesto que éstos suelos contaminados son un riesgo para la salud porque las plantas pueden absorber estos metales.

MINAM (2017), mediante Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM, el Ministerio del Ambiente (MINAM) del estado peruano, aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, en cuyo anexo, entre otros parámetros, establecen los estándares de calidad para el suelo agrícola: Cd = 1.4 mg/kg; Pb = 70 mg/Kg.

El Servicio Agrícola Ganadero (SAG), en los criterios de calidad de suelos y aguas agrícolas, indica que la legislación holandesa establece como límite máximo de Zn: 140 ppm; Cu: 36 ppm; Pb: 85 ppm y Cd: 0.8 ppm. Asimismo, indica que la legislación alemana establece límites máximos según textura del suelo: Arcillosos, Limosos y Arenoso: Zn: 200, 150 y 60 ppm, respectivamente; Cu: 60, 30 y 100 ppm; Pb: 100, 70 y 40 ppm; Cd: 1.5, 1 y 0.4 ppm, respetivamente.

Beltrán (2001) indica que el contenido medio de Zn en la superficie del suelo en diferentes países va de 17 a 125 mg/kg, los valores más altos se ubican en suelos aluviales y los más bajos en suelos orgánicos (histosoles). El promedio mundial de Zn es de 64 mg/kg. Asimismo, indica que el estándar establecido para uso agrícola (63 mg/kg) según el CCME. Por otro lado, Bowie y

Thornton (citados por Galán y Romero, 2008), indican que el valor normal del Cu en el suelo es de 2 a 60 ppm.

2.3.2. Movimiento de los metales pesados en el suelo

Pagnanelli et al. (Citado por Prieto et al., 2009), indica que una vez en el suelo, los metales pesados pueden quedar retenidos en el mismo, pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos.

Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida del suelo. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelo, nivel de introducción y tiempo (Han et al., citado por Prieto et al. 2009).

Los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías: la primera, quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo u ocupando sitios de intercambio; segunda, específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo; tercera, asociados con la materia orgánica del suelo y cuarta, precipitados como sólidos puros o mixtos (Prieto, et al., 2005).

Por otra parte, los metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; pueden pasar a la atmósfera por volatilización y pueden ser movilizados a las aguas superficiales o

subterráneas. La toxicidad de los metales depende no sólo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del ecosistema (González, Román y Prieto, 2005).

La movilidad de un metal depende no sólo de su especiación química, sino de una serie de parámetros del suelo tales como pH, materia orgánica, carbonatos, minerales de la arcilla (Galán y Romero, 2008). Estos mismos autores indican que no todos los cationes de cambio están igualmente disponibles, sino que depende del mineral o minerales de los que están formando parte como complejo de cambio. No será igual si se encuentran en una esmética o en una illita. Indican también, que cuando el metal está precipitado, no se comportará igual si lo hace como carbonato, sulfato o fosfato. Tampoco será lo mismo que el metal se encuentre formando parte de un sulfuro (relativamente oxidable y solubilizable) que de un silicato (prácticamente resistente en todos los medios).

Bourg (citado por Peris, 2006) indica que la solubilidad y, por tanto, la movilidad de los metales en el suelo puede incrementarse por tres procesos: descenso de pH, modificaciones en las condiciones redox, incremento de la concentración de algunas sales inorgánicas y de agentes complejantes, naturales o sintéticos, que producen cambios en la especiación de los metales. Ross (citado por Peris, 2006), puntualiza que las características y propiedades del suelo que influyen en las reacciones, transformaciones y movilidad de los metales son el pH, el potencial redox, la materia orgánica, la superficie

específica de los coloides, los carbonatos, la capacidad de intercambio catiónico, los óxidos de Fe y Mn, y el tipo y la cantidad de arcilla.

Rivero y Houba *et al.* (Citados por Peris, 2006), coinciden en que el pH del suelo es el principal factor que condiciona los procesos de adsorción en el suelo y la actividad de los metales. Basta *et al.* (Citados por Peris, 2006), obtuvo resultados que sugieren que el pH es la característica edáfica que más afecta a la adsorción de Cd, Cu y Pb. La forma en que el pH afecta a la adsorción de los metales en el suelo ha sido explicada por diversos mecanismos.

Ross (Citado por Peris, 2006), sostiene, asimismo, que generalmente, los metales quedan retenidos en el suelo a pH básicos, mientras que a pH ácidos los metales están más solubles siendo, por lo tanto, mayor su disponibilidad para las plantas, con algunos casos excepcionales en que algunos metales están disponibles a pH básicos.

Galán, y Romero (2008), indican que, por lo general, la movilidad de los metales pesados es muy baja, quedando acumulados en los primeros centímetros del suelo, siendo lixiviados a los horizontes inferiores en muy pequeñas cantidades. Por eso la presencia de altas concentraciones en el horizonte superior decrece drásticamente en profundidad cuando la contaminación es antrópica.

Por lo general, el pH de los suelos varía entre 4,0 y 8,5. La movilidad de los elementos se ve afectada por los cambios de pH (Tandy et ál., 2004; Uchimiya

et ál., 2010, citados por Reyes, y Barreto, 2010). En general, se observa que la movilidad de los metales aumenta a pH ácido (Xu y Saiers, Ortiz et ál., Polubesova et ál., citados por Reyes M., 2010).

Por otra parte Gutiérrez et ál., Juhasz et ál. (citado por Reyes, M., 2010), indican que un aumento de pH incrementa el número de sitios de adsorción disponibles en los minerales de arcillas, en los óxidos amorfos y en la materia orgánica, pero no necesariamente aumenta la cantidad de metales traza adsorbida, puesto que la adsorción depende entre otros factores de la afinidad química intrínseca del elemento respecto al material adsorbente; asimismo indica que la capacidad de enlace de los metales está directamente relacionado con la capacidad de intercambio catiónico (CIC); por lo general, a mayor CIC, mayor es la cantidad de ion adsorbido (Liu et ál.; Pei et ál.; Kabata y Pendias; citados por Reyes y Barreto, 2010). Los minerales de arcilla raramente existen en forma pura en los suelos, usualmente se asocian con coloides húmicos y precipitados de óxidos produciendo los llamados complejos órganominerales (Pei et ál.; Alloway, 1995, citados por Reyes y Barreto, 2010).

Galán y Romero (2008) sostienen que la capacidad depuradora de un suelo depende de los contenidos en materia orgánica, carbonatos y oxihidróxidos de hierro y manganeso, de la proporción y tipo de minerales de la arcilla, de la capacidad de cambio catiónico del suelo, del pH y Eh, textura, permeabilidad y actividad microbiana. Galán y Romero (2008), indican, asimismo, que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio o

quelatos; indican que la adsorción puede ser tan fuerte que queden estabilizados, como el caso del Cu, o formen quelatos también muy estables, como puede pasar con el Pb y Zn.

2.3.3. La capacidad de intercambio catiónico.

La Capacidad de intercambio catiónico (CIC) de un suelo se define, como la capacidad máxima de un suelo de retener cierto número de miliequivalentes de cationes metálicos. También llamada Capacidad de Cambio Catiónico (CCC), es la capacidad que presenta un suelo, y más concretamente el Complejo arcillo-húmico, de retener cationes, y se expresa normalmente en cmol (+)/kg de suelo (Soriano, 2018).

Por otra parte, Martel et al. y Manrique et al. (Citados por Mendoza, R., 2012), coinciden en indicar que la capacidad de intercambio catiónico (CIC) es el total de cationes intercambiables que un suelo puede retener a un pH especificado. Los componentes del suelo que contribuyen a la CIC son la arcilla y la materia orgánica, y en una menor extensión, el limo. Lax (1968) indica que el cambio catiónico se puede considerar como una reacción de equilibrio entre un compuesto suelo-catión y los de una disolución en contacto con aquél.

La fracción orgánica coloidal del suelo, aun siendo mucho menos abundante, es específicamente más activa como cambiador de cationes, de manera

general del 50 al 80 % de la capacidad de intercambio catiónico de un suelo reside en la fracción orgánica (Lax, 1968). Por otra parte, se indica que la CIC de un suelo está fuertemente afectada por la naturaleza y cantidad de minerales de arcilla y materia orgánica presentes en el suelo. Suelos con predominancia de minerales 2:1 tienen mayor CIC que suelos con minerales predominantemente 1:1. Suelos con alto contenido de arcilla y materia orgánica tienen alta CIC que suelos arenosos y bajos en materia orgánica. (Havlin et al., citado por Mendoza, 2012).

Lax (1968), indica que el cambio iónico en la fracción orgánica del suelo se realiza a costa de los grupos -COOH libres y de los -OH fenólicos y enólicos; afirma, asimismo, que los grupos -COOH son activos como cambiadores de iones en condiciones ácidas, mientras que los -OH precisan pH superior para actuar como tales. Lax (1968), indica, también, que las fracciones más interesantes son los ácidos húmicos y fúlvicos; precisa, asimismo, que se ha encontrado mayor acidez total y mayor número de grupos carboxilo en los ácidos fúlvicos que en los húmicos, concluyendo que los ácidos fúlvicos tienen mayor capacidad de cambio que los húmicos.

La CIC de un suelo depende del % de arcilla y materia orgánica que contenga. La arcilla es el elemento más abundante, por lo que realmente es la que más influencia tiene en la CIC, aunque estos valores están dados en función de la cantidad de arcilla también pueden variar según el tipo de esta, (vermiculitas,

illitas, montmorillonita, etc.) ya que unas presentan un mejor poder de fijación que otras (Soriano, 2018).

Abrego (2012) indica que existen tres teorías compatibles, pero con diferentes enfoques que rigen las leyes de la CIC. La Red Cristalina: Considera las partículas de los minerales como sólidos iónicos; los iones de los bordes están débilmente retenidos por lo que pueden abandonar la estructura y pueden cambiarse con los de la solución del suelo. La Doble Capa: Considera el contacto entre el sólido y la fase líquida como un condensador plano; se forma una doble capa eléctrica formada por los iones del sólido y los atraídos en la solución. Membrana Semipermeable: La interfase sólido-líquido actúa como una membrana semipermeable que deja pasar los iones de la solución y a los de la superficie de las partículas, pero no a los del interior de los materiales. Un valor de CIC superior a 25 $\text{cmol}(+)/\text{kg}$ asegura una buena retención catiónica, aunque valores superiores a 20 $\text{cmol}(+)/\text{kg}$ resultan aceptables. Los valores inferiores a 10 $\text{cmol}(+)/\text{kg}$ son francamente insuficientes y el lavado de bases procedentes de la alteración será muy alto (Soriano, 2018).

2.3.4. Efecto de los metales pesados en las plantas.

Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanza niveles que rebasan los límites máximos permitidos causan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal y el desarrollo de las plantas, y un disturbio funcional en otros componentes del ambiente, así como la disminución de las

poblaciones microbianas del suelo, el término que se usa o se emplea es “polución de suelos” (Martín, citado por Prieto et al., 2009).

La acumulación de metales pesados en las plantas inhibe o activa algunos procesos enzimáticos que afectan su productividad tanto cualitativa como cuantitativamente. El plomo (Pb), el arsénico (As), el cadmio (Cd) y el zinc (Zn) y otros metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas hasta concentrarse en sus tejidos a niveles tóxicos. Tal situación puede ser una posible vía de entrada de estos metales en la cadena alimentaria humana a través del consumo de plantas, directa o indirectamente por los seres humanos (Ortiz, et al., 2009).

Los metales pesados pueden inhibir ciertos procesos fisiológicos de las plantas, afectando el crecimiento de algunos órganos como la raíz; entre el grupo de metales estudiados y que tienen impactos negativos en el desarrollo de las plantas se encuentran el cobre, cadmio, cinc, plomo, y el níquel.

El Cd se comporta como más tóxico que el Pb y el daño que este metal causa es más grande que el generado por el Pb afectando el crecimiento de la planta y su tolerancia a otros metales (Niu *et al.*, citado por Madera *et al.*, 2014).

Eskew y col. (citados por Vargas et al., 2007), indican que el níquel es esencial para las plantas, animales y bacterias y es requerido en concentraciones muy bajas, de 1.7 $\mu\text{mol/g}$ o menos en biomasa seca; sin embargo, el exceso de níquel es tóxico, los síntomas de toxicidad se observan entre 0.19 y 0.85 $\mu\text{mol/g}$ en peso seco de la planta, e incluyen la inhibición

del crecimiento de la raíz y la aparición de clorosis entre las venas de las hojas (Krämer y col., citados por Vargas et al. 2007).

a. Efecto del Zinc en las plantas

Amezcu y Lara (2017), indican que:

- El zinc es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas; indican, asimismo, que la cantidad de zinc que éstas necesitan para crecer y desarrollarse adecuadamente es muy pequeña: oscila entre 15 y 20 miligramos por kilogramo de tejido seco.
- El zinc forma parte, de las enzimas que participan en la percepción de factores de estrés biótico y abiótico, originados por otros organismos o por cambios ambientales, respectivamente, así como en la respuesta de defensa de las plantas para contender contra dichos estreses.
- La poca disponibilidad y el agotamiento del zinc en el suelo hacen de este elemento uno de los principales micronutrientes minerales limitantes del crecimiento y desarrollo, tanto de los cultivos agrícolas como de todas las especies vegetales.
- La absorción y acumulación de grandes cantidades de zinc resulta tóxica para las plantas porque ocasiona un desbalance metabólico generalizado en sus células; los síntomas visibles asociados a niveles excesivos de zinc en los tejidos y órganos de las plantas son: la disminución de frutos y semillas, un crecimiento atrofiado y el amarillamiento de las hojas.

- Los síntomas de toxicidad por exceso de zinc en las plantas aparecen, por lo general, cuando las hojas presentan concentraciones mayores a 300 miligramos por kilogramo de tejido; sin embargo, esto es variable en diferentes especies.

La aplicación constante de grandes cantidades de zinc en el suelo o directamente en las plantas conlleva el riesgo de generar acumulaciones de dicho elemento que pueden llegar a ser tóxicas; asimismo, otras actividades humanas, como la minería, la fundición y el riego de suelos agrícolas con aguas residuales, también contribuyen a la contaminación de los suelos y ponen en riesgo el crecimiento y desarrollo de las plantas y, de manera particular, de los cultivos agrícolas (Amezcuza y Lara, 2017).

Rout y Das (citados por Vargas, Martínez, Ortiz y López, 2007), reportan que el exceso de zinc no inhibe la germinación, pero si el crecimiento de la raíz en concentraciones de 7 μM en plantas de *Cajanus cajan*; otros síntomas de la toxicidad ocasionada por este metal son el enanismo de las plantas, la clorosis y una reducción en la producción de biomasa.

Vargas, Martínez, Ortiz y López (2007), en un estudio realizado con los objetivos de: a) Determinar la toxicidad de concentraciones micromolares de dos micronutrientes, el zinc y níquel, y un metal no esencial para las plantas, el plomo, y b) Demostrar que *A. thaliana* es una planta sensible para evaluar la toxicidad y que además permite correlacionar la proliferación celular de los meristemas de la raíz primaria con la inhibición del crecimiento de ésta; en

los que utilizaron níquel (Ni) a 0, 50, 100, 150, 200 y 250 μM ; zinc a las concentraciones de 0, 500, 1000, 1500 y 2000 μM , y plomo en concentraciones de 0, 500, 1000, 1250 y 1500 μM ; los resultados obtenidos pudieron inferir que a los 4 días el metal más tóxico con base en la inhibición total del crecimiento de la raíz primaria fue el níquel, a 250 μM . En este tiempo, el plomo fue el segundo metal con más toxicidad, inhibiendo totalmente el crecimiento de la raíz a 1000 μM , mientras que el zinc fue el metal menos tóxico, ya que inhibió a la raíz a 2000 μM . A los 6 días, el metal más tóxico con base en la inhibición total del crecimiento de la raíz primaria fue el níquel, ya que a 50 μM se inhibió completamente el crecimiento. A este tiempo tanto el zinc como el plomo detuvieron por completo el crecimiento de la raíz primaria a 1000 μM ; asimismo encontraron que, tanto el zinc como el níquel, a concentraciones mayores, además de abatir el crecimiento de la raíz primaria, inhibieron en general la formación de raíces laterales y a los 6 días el follaje fue amarillento y más reducido, con excepción del plomo que no encontraron síntomas de afección al follaje.

b. Efecto del cobre en las plantas.

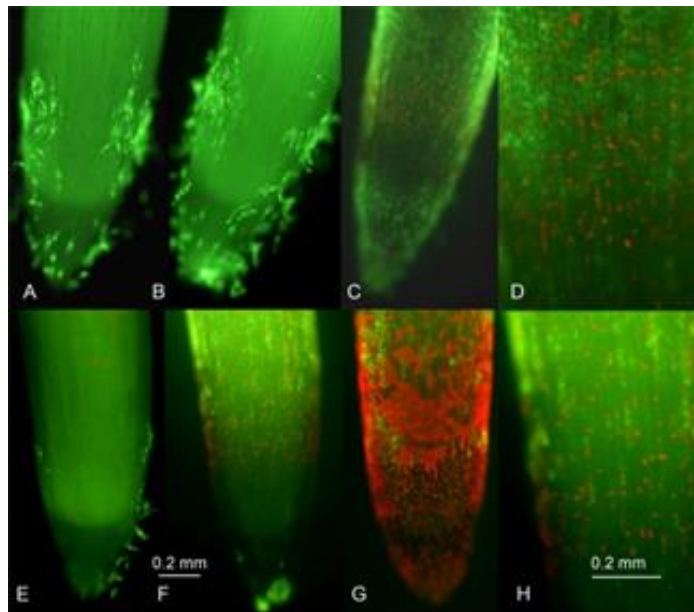
El cobre (Cu) es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas; sin embargo, estas mismas lo requieren en pequeñas cantidades, es por ello que se clasifica dentro de los micronutrientes. La función principal del Cu en la planta es la de participar como coenzima en varios sistemas enzimáticos involucrados en la formación y conversión de aminoácidos, participa

activamente en la síntesis de clorofila y proteínas; también se le atribuye un papel importante en el desarrollo de color y sabor a los frutos. (INTAGRI, 2017).

El cobre ayuda a formar lignina en las paredes celulares, que proporcionan soporte para mantener las plantas en posición vertical. Es particularmente importante para la formación de polen viable, la formación de semillas y la resistencia al estrés (INTAGRI, 2017).

INTAGRI (2017), indica que el Cu en altas concentraciones puede causar toxicidad en los cultivos. Los síntomas de toxicidad incluyen reducción del vigor del brote, sistemas radiculares poco desarrollados, raíces descoloridas y clorosis foliar (coloración amarillenta). Las aplicaciones de niveles altos de Cu vía foliar afectan seriamente el crecimiento normal de la planta, resultando en una reducción del rendimiento total, número de frutos, peso seco de la raíz y altura de la planta.

Corrales (2011), en su publicación titulada “La toxicidad del cobre en el maíz”, donde utilizó dos variedades de maíz (*Zea mays* L.): Oropesa (tolerante a la toxicidad por Cu) y Orense (sensible a la toxicidad por Cu). En los resultados del estudio se observó que ambas variedades veían reducido su crecimiento a partir de una concentración de $2\mu\text{M}$ Cu. La variedad Orense reducía drásticamente su crecimiento radicular a partir de una concentración de $5\mu\text{M}$ de Cu, mientras que la variedad Oropesa se veía claramente afectada a partir de una concentración de $10\mu\text{M}$.



Fuente: Corrales, I., (2011).

Figura 1 Vista de la toxicidad radicular por Cu en raíces de maíz.

La tinción observada en la fotografía anterior (Figura 1) nos da idea de la integridad celular ya que mientras que la tinción verde nos indica que células están intactas, la tinción roja es indicadora de daños en la célula (Corrales, 2011).

Asimismo, en la imagen podemos observar como la raíz de la variedad Orense tratada con $5\mu\text{M}$ de Cu (G) está profundamente afectada por el metal. No obstante, las dos variedades acumularon cantidades similares de Cu en las diferentes zonas del ápice radicular en todos los tratamientos realizados. La enzima SOD (Superóxido dismutasa) es un componente importante de la maquinaria de defensa antioxidante. El incremento de su actividad es un factor muy importante en la tolerancia al Cu. En el ápice radicular de las

plantas tratadas con 5 μ M Cu de la variedad Oropesa, se observó un incremento sustancial de la actividad de esta enzima (Corrales, 2011).

González et al. (2005), indica que, en estudios realizados a suelos europeos, que variaban en sus características fisicoquímicas y con el objetivo de cuantificar la absorción de cobre (Cu) en plantas se sembraron cebada y tomates en dichos suelos y se evaluó en las plantas, alargamiento de la raíz (para la cebada) y el crecimiento general (para el tomate). Los resultados obtenidos demostraron que las concentraciones de Cu causaron inhibición para el alargamiento de raíz y el crecimiento global de la planta de tomate; por su parte los suelos más calcáreos, demostraron ser los de mayor retención de Cu, lo que demuestra una vez más que las características del suelo influyen de manera directa y determinantes con la concentración de metales en éstos y con los niveles de disponibilidad hacia las plantas.

c. Efecto del Plomo en las plantas.

El plomo es uno de los metales que más contaminan el medio en países industrializados y se encuentra ampliamente distribuido en zonas urbanas y constituye uno de los problemas de salud más serios para la población humana. Aunque el plomo no es esencial para las plantas éste es incorporado en éstas mediante la unión a los compuestos de la pared celular y posteriormente es internalizado a las células por mecanismos que no han sido elucidados (Song y Col., citado por Vargas et al., 2007).

Bergmann (citado por Miranda, Carranza, Rojas, Martínez, Fischer y Zurita 2008) en el estudio “Acumulación de metales pesados en suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con agua del río Bogotá”, indica que se ha demostrado que valores altos de plomo (Pb) reducen drásticamente el crecimiento de los cultivos, máxime si hay deficiencia de fosfato.

Los principales procesos fisiológicos afectados son la actividad enzimática, la nutrición mineral, el potencial hídrico el status hormonal, la estructura de la membrana y el transporte de electrones. Los síntomas de toxicidad por plomo pueden dividirse en síntomas no específico y específicos. Según Burton et al. (citado por García, 2006), los síntomas visuales no específicos consisten en una inhibición rápida del crecimiento radicular, reducción del área foliar, clorosis y aparición de manchas pardo - rojizas fenológica en tallos, peciolo y hojas y necrosis foliar. Asimismo, el plomo disminuye el porcentaje e índice de germinación, en caso del arroz, disminuyo la germinación de semillas en 14 a 30 %; de la proporción longitud radicular / parte aérea.

García (2006), hace mención sobre diversos estudios que han dado lugar al comportamiento del plomo y sus efectos en las plantas en condiciones de alta y bajas concentraciones. A bajas concentraciones, el plomo tiene mayor sensibilidad en el desarrollo y extensión de la raíz principal diferencia de las raíces laterales (Obroucheva et al., citado por García, 2006). En maíz se ha observado una fuerte inhibición del crecimiento de la raíz primaria y una corta

zona de ramificación, cuyas raíces laterales son más compactas, ocupando una posición mucho más íntima en la punta de la raíz, en comparación a raíces crecidas en ausencia de plomo (Obroucheva et al., citado por García, 2006).

Díaz, Larqué, Alcantar, Carrillo y Vásquez (2001), en el estudio denominado “Alteración de algunos procesos fisiológicos en trigo por adición de plomo”, donde cultivaron trigo hidropónico con añadiduras de concentración de plomo al 10, 10, 50 y mg /l. al medio; encontraron que los primeros síntomas de toxicidad por plomo recién se puede observar en la etapa de espigamiento a concentraciones de 50 y 100 mg de Pb/l., con manifestaciones de franjas cloróticas en las hojas del trigo; estos resultados sugieren que el plomo tiene efecto tóxico en el trigo, a altas concentraciones.

Uno de los síntomas de la toxicidad ocasionada por el plomo es la disminución del crecimiento de la raíz y las concentraciones letales exceden la concentración inhibitoria mínima (250 M) en menos de 10 veces (Ivanov y col., citados por Vargas et al., 2007).

d. Efecto del Cadmio en las plantas.

Según Rodríguez, Martínez, Romero, Del Río y Sandalio (2008), en su publicación “Toxicidad del Cadmio en Plantas”, a través de varias citas indican que los efectos tóxicos del cadmio sobre las plantas, han sido ampliamente estudiados; sin embargo, los mecanismos de su toxicidad aún no se conocen completamente. Aseveran, también que, en general el Cd

interfiere en la entrada, transporte y utilización de elementos esenciales, como el Ca, Mg, P y K y del agua, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta. El Cd también reduce la absorción de nitratos y el transporte de los mismos de la raíz al tallo, además de inhibir la actividad nitrato reductasa en tallos.

Rodríguez, et al. (2008), indica que las plantas expuestas a suelos contaminados con cadmio presentan modificaciones en la apertura estomática, fotosíntesis y transpiración. Uno de los síntomas más extendidos de la toxicidad por cadmio es la clorosis producida por una deficiencia en hierro, fosfatos o por la reducción del transporte de Mn.

El tratamiento con cadmio produce reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática, alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática y desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO₂ (Rodríguez, et al.,2008).

El Cd y Ni redujeron el crecimiento, ruta fotosintética y distribución de carbohidratos en plantas de arroz. En cebada, también, el crecimiento de raíces estaba inhibido por metales traza y, por lo tanto, este tipo de crecimiento puede ser considerado como un parámetro para medir la tolerancia a la toxicidad por metales traza (Breckle and Kahle, citado por Cires, 2009).

2.3.5. Materia orgánica y sustancias húmicas.

Según Rosell (citado por Janampa, Quiñones, Suarez y Chalco, 2014), indica que la materia orgánica del suelo (MOS) es un conjunto de residuos orgánicos de origen animal y/o vegetal, que están en diferentes grados de descomposición, y que se acumulan tanto en la superficie como dentro del perfil del suelo. Por otro lado, Jackson (citado por Janampa, et al., 2014), indican también, que el carbono orgánico del suelo (COS) es el principal elemento que forma parte de la MOS, indicando asimismo que es común que ambos términos se confundan o se hable indistintamente de uno u otro.

Sánchez (2002), indica que la materia orgánica del suelo o humus incluye un amplio espectro de constituyentes orgánicos, muchos de los cuales proceden de tejidos biológicos; distingue dos grandes grupos, las sustancias no húmicas y las sustancias húmicas. Aiken et al. (citado por Sánchez, 2002), define a las sustancias húmicas como una categoría de sustancias de color amarillo a negro, de elevado peso molecular y propiedades refractarias, a la que se incluye su naturaleza coloidal y su resistencia al ataque microbiano.

Galantini (citado por Janampa, et al., 2014), indica que, en la MOS se distingue una fracción lábil, disponible como fuente energética, que mantiene las características químicas de su material de origen, y una fracción húmica, más estable, constituida por ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y huminas.

La materia orgánica del suelo puede contener cantidades muy diferentes de sustancias húmicas y no húmicas. Así, la cantidad de carbohidratos oscila entre un 5-25%, las proteínas entre un 15-45%, los lípidos de un 2% en suelos forestales a un 20% en suelos turbosos, y las sustancias húmicas del 33-75% del total de materia orgánica del suelo. Sin embargo, podemos hacer una estimación de la composición media de la materia orgánica del suelo (Sánchez, 2002).

Las sustancias húmicas (SH) son el principal componente de la materia orgánica del suelo (MOS) y representan, por lo menos el 50% de ésta (Simpson et al., 2007, citado por Janampa et al., 2014). Dentro de la fracción húmica, las huminas son el componente más abundante. Las huminas incluyen una amplia gama de compuestos químicos insolubles en medio acuoso y contienen, además, compuestos no húmicos como largas cadenas de hidrocarburos, ésteres, ácidos y estructuras polares, íntimamente asociados a los minerales del suelo (Hayes y Clapp, 2001, citados por Janampa et al. 2014).

Las diversas fracciones de las sustancias húmicas obtenidas tienen distintas propiedades físico - químicas. Los ácidos fúlvicos contienen entre 1-3% de N, mientras los ácidos húmicos contienen entre el 2-6% (Schnitzer, 1976, citado por Sánchez, 2002). Los ácidos húmicos tienen un peso molecular más alto y heterogéneo (desde 5000 Da, hasta 1.000.000 Da), los ácidos fúlvicos por el contrario tienen menor peso molecular y además es más homogéneo (500-5000 Da) (Aiken et al., citados por Sánchez, 2002). Las estructuras de

los ácidos húmicos son más complejas que las de los ácidos fúlvicos, la naturaleza anfifílica de los ácidos húmicos es mayor que la de los ácidos fúlvicos. Según Stevenson (citado por Sánchez, 2002), la acidez total de los ácidos fúlvicos (900 a 1400 cmol/Kg) prácticamente duplica a la de los ácidos húmicos (500 a 870 cmol/kg). Esta mayor acidez de los ácidos fúlvicos se debe a que estas sustancias tienen un contenido mayor en grupos carboxílicos (-COOH) e hidroxílicos (-OH), presumiblemente fenólicos, que los ácidos húmicos.

Los ácidos húmicos constituyen la mayor fracción extractable de las sustancias húmicas; son menos ácidos (acidez de 400-870 meq/100g) y tienen mayor peso molecular que los ácidos fúlvicos. Contienen alrededor de 50 – 62 % de carbono; presentan colores de café oscuro a negro (Schulin, et ál, citado por Reyes y Barreto, 2011).

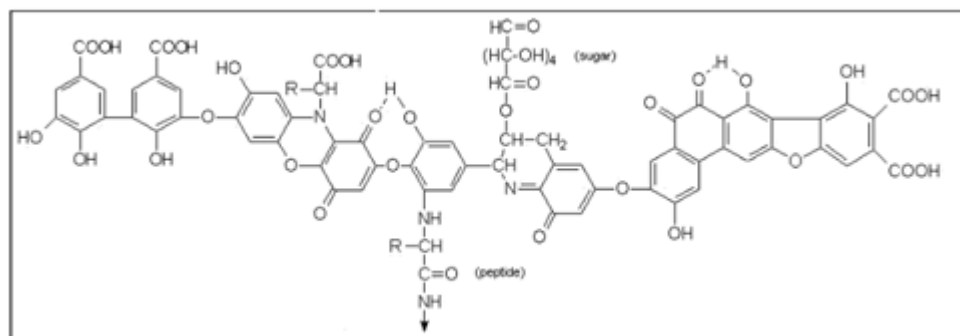


Figura 2 Estructura química del ácido húmico (Stevenson, citado por Fernández, 2003).

Stevenson y Schulin et ál. (citados por Reyes y Barreto, 2011), indican que los ácidos fúlvicos, viene a ser la fracción de sustancias húmicas soluble en medio ácido y básico, razón por la que son extraídos después de remover los

ácidos húmicos por acidificación. Tienen menor peso molecular y son considerablemente más ácidos (acidez de 900-1400 meq/100g) que los ácidos húmicos. Presentan coloraciones de amarillo claro a amarillo-café. Contiene estructuras aromáticas y alifáticas extensivamente sustituidas con oxígeno. Asimismo, Jano (citado por Nieto et. al, 2011), indica que, de acuerdo a su solubilidad en medio acuoso, las sustancias húmicas (SHs) pueden separarse en ácidos fúlvicos (AFs) (soluble a todos los valores de pH), huminas (Hu) (insolubles a todos los valores de pH) y en ácidos húmicos (HAs) (solubles en medio alcalino e insolubles a pH menor a 2).

La habilidad de los ácidos húmicos y fúlvicos para formar complejos estables con iones metálicos se basa en su alto contenido de grupos funcionales donadores de electrones, en particular, -COOH y -OH fenólicos, también OCH^3 , $-\text{NH}_2$. Por otro lado, Schulin, et ál. (1995) citado por Reyes y Barreto (2011), indica que los ácidos fulvicos presentan carácter más ácido que los húmicos, mientras que en los primeros el 50% de los grupos carboxílicos se disocian a un pH de 3,5, en los húmicos se disocian sólo a pH 6,0. La materia húmica del suelo contribuye sustancialmente a la CIC.

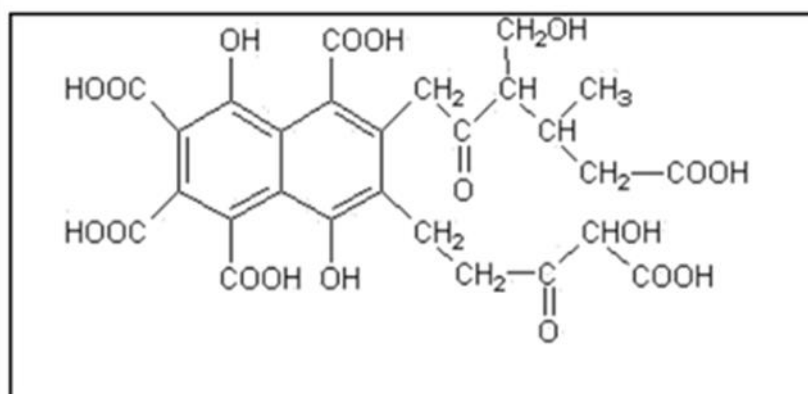


Figura 3 Estructura química del ácido fulvico (Bufle, citado por Fernández, 2003)

Livens (citado Nieto et al., 2011), indican que las sustancias húmicas son ligandos orgánicos que juegan un rol crucial en la especiación, transporte y deposición de una gran variedad de compuestos que van desde iones metálicos hasta compuestos lipofílicos.

Cada una de estas sustancias juega un papel particular en el medio ambiente; así, mientras que los ácidos fulvicos pueden formar complejos metálicos más solubles, biodisponibles y móviles debido a su menor tamaño molecular y gran contenido de grupos funcionales ácidos, los ácidos húmicos tienden a inmovilizar y a acumular al metal en la fase sólida del suelo, por lo que se considera que controlan la absorción radicular de metales por las plantas (Stevenson, 1994, citado por Nieto et. Al., 2011).

Los ácidos húmicos pueden ser utilizados en tratamientos de descontaminación en suelos y lagos (Perminova y Hatfield, citado por Nieto

et. al, 2011), siendo su capacidad complejante ampliamente estudiada para metales pesados, elementos radioactivos e incluso halógenos, ácidos orgánicos, pesticidas y herbicidas (Lubal et al., Gevao et al., Myneni y Cozzolino et al., citados por Nieto et. Al., 2011).

Buffle (citado por Violante, *et al.*, 2010), indica que las sustancias húmicas contienen una gran cantidad de sitios de complejación, por lo tanto, se comportan como un sistema de complejación natural "multiligando". Violante, et al. (2010), indica que el alto grado de selectividad de la materia orgánica del suelo para la mayoría de elementos traza en forma catiónica forman complejos de esfera interna con los grupos funcionales, a menudo formando un anillo de cinco o seis miembros interno sobre estructuras.

Según Violante *et al.* (2010), las reacciones de complejación tienen los siguientes efectos: i) los iones metálicos se les impide ser precipitado; ii) formadores de complejos pueden actuar como portadores de elementos traza en la solución del suelo; iii) su toxicidad se reduce a menudo por complejación. La constante de estabilidad (K) de los complejos de oligoelementos con ácidos húmicos aumenta con el aumento de pH y la fuerza iónica decreciente.

Cires (2009) en su publicación "Stress nutricional de las plantas", indica que la materia orgánica es uno de los componentes del suelo más importantes, responsable del enlace de metales pesados, tanto como fase sólida como complejos solubles.

El comportamiento de polímeros naturales como los ácidos húmicos y fúlvicos de los suelos en la interacción con metales es un proceso que puede contemplarse en dos etapas: por un lado, los componentes solubles de las sustancias húmicas pueden formar complejos que serán los responsables del aumento de la solubilidad de los metales y, por otro lado, las partículas sólidas coloidales de sustancias húmicas o asociaciones organominerales contribuyen notablemente a la retención y/o inmovilización de metales (Cires, 2009).

En cualquier caso, la interacción con los metales tiene lugar a través de los diferentes grupos funcionales presentes en los polímeros orgánicos. Así, los ácidos fúlvicos juegan un papel importante en el transporte de los metales en la solución del suelo, debido a su menor peso molecular y mayor solubilidad comparada con los ácidos húmicos (Madrid, citado por Cires 2009).

El Cu y el Cd tienen más tendencia a ser adsorbidos por la materia orgánica. Los ácidos húmicos del suelo pueden retener Pb(II); estos cationes de Pb(II) pueden enlazarse a los ácidos húmicos del suelo mediante grupos hidroxilos y carboxilos (Soldatini et al., citado por Cires, 2009).

Wang et al. (citado por Cires, 2009), destaca la capacidad del Hg(II) para unirse fuertemente no sólo a la materia orgánica sólida, sino también a los sulfuros inorgánicos disueltos, y especies de S sin carga disueltas, lo que produce un aumento de la solubilidad y movilidad del metal, alterando su biodisponibilidad para las plantas.

Wang et al. (citado por Cires, 2009), indica, asimismo, que un mayor grado de adsorción metálica al suelo provoca una disminución de su lixiviación,

volatilización y absorción por organismos, disminuyendo así el posible impacto ambiental de altas concentraciones metálicas; puntualiza que el proceso de adsorción ha sido muy aplicado en la descontaminación de metales pesados tanto de suelos como de aguas.

Pardo (citado por Cires, 2009), sostiene que la presencia de ligandos orgánicos puede influenciar la capacidad de retención de metales pesados del suelo de dos maneras distintas: a) al competir más eficazmente por los cationes metálicos que los sitios de la superficie sólida o ser adsorbidos preferencialmente en la superficie, reduciendo la capacidad adsorbente del sistema, puede disminuir la retención de metales pesados por parte del suelo y b) al formar complejos superficie-metal ligando capaces de complejar o quelatar el ion metálico al mismo tiempo que permite la coordinación del metal a la superficie, puede aumentar la capacidad adsorbente de metales pesados del suelo.

Weng et al. (citados por Cires, 2009), modelizaron la contribución de los adsorbentes individuales de metales pesados a las propiedades adsorbentes de un suelo arenoso. Sus resultados mostraron que la materia orgánica era el adsorbente más importante en la retención de Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} y Ni^{2+} en este tipo de suelos.

Cruz, Céliz, Hermosin y Cornejo (2002), en el estudio denominado “Adsorción-desorción de los metales pesados Pb (II) y Hg (II) por modelos

de partículas coloidales del suelo”, donde utilizaron los siguientes adsorbentes individuales i) una montmorillonita de Wyoming (SW), ii) una ferrihidrita poco cristalizada (Fh) y iii) un ácido húmico de suelo (AH) extraído del horizonte A (0-15 cm) de un histosol. Los resultados obtenidos demuestran que la adsorción de Pb(II) fue alta sobre el ácido húmico, moderada en la montmorillonita y nula sobre la ferrihidrita, mientras que para el Hg(II) la adsorción disminuyó en el siguiente orden: ácido húmico > ferrihidrita > montmorillonita. Estudios por espectroscopia infrarroja y difracción de rayos X pusieron de manifiesto el papel de los grupos carboxilatos del AH en la retención de los metales y la penetración de los mismos en el espacio interlaminar de la arcilla; asimismo encontraron que los recubrimientos de ácido húmico sobre la montmorillonita elevaron significativamente la adsorción de ambos metales pesados (Pb y Hg). Este estudio demuestra una vez más el potencial de las sustancias húmicas para la remoción de metales pesados contenidos en suelos contaminados.

Cortés, Bravo, Peinado y Menjivar (2015) en su trabajo de investigación denominado “Adsorción de metales pesados en andisoles, vertisoles y ácidos húmicos”, donde probaron el comportamiento de suelos andisoles y vertisoles de zonas agrícolas de Colombia y ácidos húmicos extraídos de leonardita, como adsorbentes sobre cinco metales (Ni, Cu, Zn, Cd y Pb); los resultados obtenidos por estos investigadores demuestran que los ácidos húmicos (de leonardita) presentaron una afinidad (n) superior por los metales en comparación con los otros dos adsorbentes (andisol y vertisol), lo que se

atribuye, tanto a su mayor contenido de CO como a su mayor CIC, altos contenidos de grupos carboxílicos, fenólicos, alcohólicos y carbonilos, los cuales les permiten formar complejos más estables en su esfera exterior a través de interacciones electrostáticas y con su esfera interior para la retención e inmovilización de los metales.

Cortés et al. (2015), concluyen también que, la selectividad de adsorción por los metales con base en valores de máxima capacidad de adsorción (K), sigue el siguiente orden de preferencia: para ácidos húmicos: $Cd > Pb > Cu > Ni > Zn$; para Andisoles: $Pb > Cu > Cd > Zn > Ni$; y para Vertisoles: $Cd > Pb > Cu > Ni > Zn$. La fuerza de retención (n) en ácidos húmicos fue: $Pb > Zn > Cd > Cu > Ni$; en Andisoles fue: $Cu > Ni > Zn > Pb > Cd$; y en Vertisoles fue: $Zn > Ni > Cu > Pb > Cd$; asimismo, concluyen, indicando que los comportamientos encontrados permiten determinar un posible uso potencial de cada adsorbente, para inmovilizar metales en suelos contaminados.

2.3.6. Factor de bioacumulación.

El factor de bioacumulación, 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 (Audet y Charest, citados por Medina y Montano, 2014).

Lorestani et al., 2011; Nouri et al., 2011 (citados por Munive, 2018), indica que el Factor de Bioconcentración (FBC) es la relación de la concentración de elementos potencialmente tóxicos (EPT) en el suelo entre la concentración en tejido vegetal. Sin embargo, no hay acuerdo en la forma de calcularlo. Munive (2018), indica que algunos autores sugieren que se tome en cuenta la concentración de EPT en la raíz, mientras que otros, siendo la mayoría, mencionan que el FBC se calcule con la concentración en la parte aérea.

Para las plantas, el FBC se utiliza como una medida de la eficiencia de acumulación de metales en biomasa, donde valores > 1 , indican que las especies son potencialmente hiperacumuladora, y aquellas especies excluidoras poseen $BCF < 1$, tanto menores cuanto mayor es su capacidad de exclusión (Audet y Charest, citados por Medina y Montano, 2014).

2.3.7. El cultivo de la cebada.

La cebada es un cultivo importante en la sierra peruana; taxonómicamente pertenecen a la especie *Hordeum vulgare* L., que es un miembro de la tribu Triticaede, de la familia Gramineae. Todas las especies del genero *Hordeum* son silvestres, excepto *H. Vulgare* subsp. *Vulgare*, y que se caracterizan por tener espiguillas unifloras, usualmente provistas de raquilla (Molina, citado por Vázquez, 2015).

Morfológicamente presenta raíces adventicias o principales que realizan la función de transporte de agua y nutrientes a la planta y a su vez la labor de anclaje. Son de tipo fasciculado (ramificadas) y pueden alcanzar

profundidades mayores a 1 metro; el tallo, botánicamente se le denomina "caña"; está formado por una serie de nudos y entrenudos (segmentos huecos), de los entre nudos salen las hojas, que son opuestas. Presenta un tallo principal de origen seminal y tallos secundarios o macollos que se derivan de las yemas axilares del nudo basal (Molina, citado por Aldaba, 2013).

La cebada se ha utilizado como bio indicador en estudios relacionados con la absorción de metales pesados. Cabezas, Alonso, Pastor, Sastre-Conde, y Lobo (2004), al evaluar la capacidad de absorción y acumulación de metales pesados (Pb, Cu, Ni, Zn y Cr) en parte aérea (tallos y hojas) y raíces de tres especies vegetales, *Vicia sativa* L. (veza), *Hordeum vulgare* (cebada) y *Helianthus annuus* L. (girasol), sembradas en suelos enmendados con lodos de depuradora en condiciones de invernadero, encontraron que las cantidades de metales acumuladas en la planta fueron mayores en la cebada que en la veza y el girasol, siendo significativos los valores en el caso del Cu, Ni y Cr, resaltando especialmente la capacidad de la cebada para traslocar y acumular Cu y Zn.

2.4. Definición de términos.

- a. Factor de bioacumulación. Es una medida del transporte interno de un metal, e indica la relación entre la concentración acumulada en la parte aérea y la raíz de una planta (Mattina, 2003, citado por Medina y Montano, 2014).

- b. Absorción. Proceso en el cual una sustancia retiene a otra formando una solución homogénea (Sánchez, 2011).
- c. Adsorción. Adhesión de una sustancia a la superficie de un sólido o líquido mediante fuerzas o físicas o químicas débiles. Se emplea para extraer contaminantes haciendo que éstos se adhieran a adsorbentes (Sánchez, 2011).
- d. Índice de toxicidad. Es una propuesta de Zucconi et al., que sirve para medir la toxicidad de sustancias húmicas a través del índice de germinación. Ha sido adaptada para medir toxicidad de elementos metálicos en la germinación (Varnero et al., 2007).
- e. Recuperación de suelos. Uso de tecnología para aislar o destruir las sustancias contaminantes, alterando su estructura química mediante procesos generalmente químicos, térmicos o biológicos (Ortiz, et al. 2007).
- f. Toxicidad de un elemento o compuesto: Es la capacidad que tiene ese material de afectar adversamente alguna función biológica (Galán y Romero, 2008).
- g. Complejación. La complejación involucra a un ion metálico en solución que está siendo rodeado por uno o más ligandos orgánicos o inorgánicos (Hill y Colman, citado en SAG Chile, s/f).
- h. Quelato. Los quelatos son productos de alta estabilidad capaces de mantener los iones metálicos rodeados de una molécula orgánica (agente quelante) de modo que queden salvaguardados del entorno que favorecería su precipitación en forma de hidróxido insoluble y no disponible para la planta (Chen y Barak, 1982, Lucena, 2006; citados por Lucena 2009).

2.5. Hipótesis

Los tres extractos húmicos tienen efectos diferentes en la remoción de Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en las variables biométricas del cultivo de cebada.

2.6. Variables

Variable independiente.

X: Extractos húmicos con tres fuentes orgánicas diferentes:

X₁: Extractos húmicos formulados.

X₂: Extractos húmicos de humus de lombriz.

X₃: Extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada.

Variable dependiente.

Y: Remoción de metales pesados.

Y₁: Remoción del Cinc (Zn).

Y₂: Remoción del Cobre (Cu).

Y₃: Remoción del Plomo (Pb).

Y₄: Remoción del Cadmio (Cd).

Variables biométricas utilizadas como medición

- Altura final de plantas, en cm.
- Número de tallos (macollos).
- Peso verde (g).

- Peso seco (g)
- Peso de raíces
- Índice de toxicidad.
- Factor de bioacumulación (FB).

Capítulo III.

METODOLOGIA

3.1. Tipo de investigación

Por su naturaleza: Investigación aplicada.

Por su contraste: Investigación experimental.

3.2. Diseño de la investigación.

Se utilizó el Diseño Completo al Azar (DCA), con tres tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, más dos testigos; los testigos estuvieron conformado por el Testigo 1: solo suelo agrícola, sin tratamiento; Testigo 2, sustrato experimental (suelo agrícola contaminado deliberadamente para el experimento).

Tratamientos en estudio.

T₁: Extractos Húmicos formuladas al 5% de concentración (producto comercial).

T₂: Extractos húmicos de humus de lombriz al 5% de concentración.

T₃: Extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada al 5 % de concentración.

Testigo 1: Solo suelo agrícola.

Testigo 2: Sustrato experimental sin aplicación de extractos húmicos (suelo deliberadamente contaminado).

Unidad experimental.

Se consideró como unidad experimental una bolsa de polietileno (de 8” ancho x 12” de largo), conteniendo 4 semillas de cebada UNA Centenario. En total se tubo 9 unidades experimentales correspondientes a los tratamientos T1, T2 y T3; así como 6 unidades experimentales, correspondientes a los Testigo 1 y Testigo 2.

Materiales utilizados.

- 01 litro de humus comercial, formulado a una concentración de 15% de extractos húmicos derivados de leonardita. La composición química del extracto húmico comercial fue: 10 % de ácidos húmicos y 5% de ácidos fúlvicos.
- 10 Kg de humus, derivado de la descomposición de la mezcla estiércol de ovinos y caprinos.
- 10 Kg de materia orgánica de quebrada, obtenida de la quebrada San Pedro - Huaraz; consistente en una mezcla natural de materia orgánica descompuesta y en proceso de descomposición, procedente de bosques de alisos (*Alnus sp.*).
- 60 kilogramos de suelo agrícola, cuyas muestras fueron obtenidos al azar del ámbito del distrito de Huaraz.
- 20 Kg de suelo de relave obtenido al azar del relave Santa Rosa del ámbito del distrito de Jangas, utilizado para la contaminación deliberada del suelo agrícola.

- 01 kilogramo de semilla de cebada de la variedad UNA Centenario, utilizada como indicador biológico a fin de realizar las mediciones del impacto de la contaminación por metales pesados.
- 15 bolsas de polietileno de 8” ancho x 12” de largo (20.32 cm. de ancho x 30.48 cm de largo), las mismas que sirvieron para contener los sustratos motivo de la presente investigación.
- 02 baldes de plástico de 12 litros de capacidad.
- Lampa recta.
- Balde de 10 litros de capacidad.
- Guantes quirúrgicos.

Equipos.

- Material de vidrio de laboratorio: probeta graduada de 500 ml de capacidad, pipetas graduadas de 10 y 20 ml. matraz Erlenmeyer de 500 y 1000 ml de capacidad.
- Balanza de precisión.
- Estufa de Laboratorio.
- Computadora (CPU).
- Cámara fotográfica digital.

3.3. Población y muestra.

- a. Población.
 - Suelos agrícolas franco arenoso del ámbito del distrito de Huaraz.
 - Extractos húmicos de tres fuentes orgánicas.

- b. Muestra.
 - Muestra de suelo agrícola franco arenoso usado en el experimento.
 - Muestras de extractos húmicos obtenidos de tres fuentes orgánicas.
- c. . Muestreo de suelo agrícola.

Las muestras de suelo se obtuvieron de campos agrícolas del margen de la cordillera negra, ubicados frente a la ciudad de Huaraz.

La obtención de las muestras de suelo se obtuvo siguiendo las pautas establecidas en el Protocolo de Toma de Muestras de Suelo del Ministerio de Agricultura / Servicio Agrícola Ganadero (SAG) de Chile.

La toma y colecta de las muestras de suelo se realizó de los primeros 30 cm de profundidad, haciendo uso de una lampa; para ello se realizó una limpieza superficial del suelo, para luego realizar una excavación rectangular de 30 cm de profundidad y posteriores cortes perpendiculares para extraer un “pan de suelo”, hasta completar aproximadamente 2.5 kilos; esta acción se repitió en cada uno de los puntos muestreados. Las 21 sub muestras de suelo fueron mezcladas y homogenizadas para finalmente obtener una muestra compuesta de aproximadamente 52.5 kilos de suelos agrícolas.

d. Muestreo de material de relave.

Las muestras fueron obtenidas de la cancha o presa de relaves de la Planta Concentradora Santa Rosa de Jangas que se ubica en el kilómetro 218 de la carretera Pativilca – Caraz, en la margen izquierda y a 100 metros de la confluencia de los ríos Santa y Llancash, en el distrito de Jangas de la provincia de Huaraz, a una altitud de 2 830 msnm. Se obtuvieron 4 sub muestras de 4 kilos cada una hasta completar aproximadamente 16 kilos de material o suelo de relave.

e. Muestreo de humus de lombriz

Las muestras de humus de lombriz fueron obtenidas bajo el método al azar de las pozas de humificación del fundo “Valdivia”, ubicadas en el distrito de Yautan, provincia de Casma; se obtuvieron 5 sub muestras de humus maduro, tomadas al azar. Una vez obtenido las sub muestras fueron mezcladas y homogenizadas, conformando una muestra compuesta de 10 kilos, las que posteriormente fueron sometidas a un tamizado para eliminar impurezas y material grueso.

f. Muestreo de materia orgánica de bosques de quebrada.

Las muestras de la materia orgánica de bosques de quebrada fueron obtenidas de bosques de Aliso (*Alnus spp.*) que crecen a las orillas del río Pariac - Huaraz; se obtuvieron al azar 5 sub muestras de materia

orgánica descompuesta y en proceso de descomposición, conformando una muestra compuesta de este material. En gabinete la materia orgánica de bosques de quebrada fue sometida a un tamizado para eliminar impurezas, restos orgánicos y macrovertebrados. De la muestra compuesta se obtuvo una muestra (1 kg) para el análisis de laboratorio.

g. Muestreo de extractos húmicos comerciales.

La muestra del extracto húmico comercial se obtuvo de un universo poblacional conformado por diferentes marcas comerciales de extractos húmicos; se obtuvo el extracto húmico comercial que no presentaba otros componentes en su formulación; según la etiqueta comercial del extracto húmico, este contiene un total de 15 % de extractos húmicos, de los cuales 10 % son ácidos húmicos y el 5% son ácidos fulvicos; con un pH de 10 y una densidad de 1.064 g/ml; color negro. Es un extracto obtenido de la leonardita (materia orgánica asociada al lignito que aún no ha terminado su proceso de transformación hacia carbón).

h. Preparación del sustrato utilizado en el experimento

El sustrato sobre el cual se desarrolló la investigación fue el suelo agrícola mezclado deliberadamente con el material de relave minero en una proporción de 3:1 (suelo agrícola: material de relave minero) y tierra agrícola sola (usada con testigo 1).

El sustrato fue sometido a un análisis de laboratorio para determinar los siguientes parámetros: pH, Conductividad Eléctrica (CE), Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), % de materia orgánica, Nitrógeno Total, Potasio (K), fósforo (P), calcio (Ca), magnesio (Mg), metales pesados como el cobre (Cu), plomo (Pb), cadmio (Cd) y Zinc (Zn).

i. Extracción de los extractos húmicos de humus de lombriz.

Para la obtención de los extractos húmicos de humos de lombriz se utilizó 0.5 kilo de humus, previamente tamizado, en 10 litros de agua. El humus fue contenido en una bolsa de tela de algodón y puesto a disolver en el agua por un periodo de 60 minutos, después del cual, ejerciendo presión sobre la bolsa con humus y en el medio líquido se extrajeron todas las sustancias húmicas, mediante el escurrido hasta que este presentará una coloración clara. El extracto húmico obtenido fue sometido a sedimentado dentro de la cubeta por 24 horas, posteriormente el líquido sobrenadante fue filtrado con una malla y depositado en envases de botellas de plástico. El extracto húmico presentó una coloración marrón – amarillenta.

j. Extracción de extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada.

La obtención de los extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada se realizó siguiendo el mismo procedimiento descrito en el

acápite anterior. Para ello se utilizó 0.5 kilo de materia orgánica de bosques de quebrada, debidamente tamizada; esta materia orgánica se puso a disolver en 10 litros de agua, por un tiempo de 60 minutos, después del cual se extrajo las sustancias húmicas, ejerciendo presión sobre la bolsa conteniendo la materia orgánica.

El extracto obtenido fue puesto a sedimentación por gravedad dentro de la cubeta por 24 horas, posteriormente el sobrenadante se filtró y se colocó en envases plásticos. El extracto obtenido presento una coloración marrón claro.

k. Llenado y acondicionado de las unidades experimentales.

Cada unidad experimental (bolsa de polietileno de 8” de ancho x 12” de largo), fue llenada con 5 kg del sustrato resultante de la mezcla deliberada de tierra agrícola con relave minero; haciendo un total de 9 bolsas. De igual forma, el Testigo 2, equivalente a tres unidades experimentales (tres bolsas) fue llenado con el sustrato preparado para el estudio.

El Testigo 1, le correspondió 3 unidades experimentales (3 bolsas), los cuales fueron llenadas solo con suelo agrícola.

l. Aplicación de los extractos húmicos

Una vez llenados las bolsas de cada una de las unidades experimentales correspondientes a los tratamientos T1, T2, T3 se le agrego 2.5 litros de

los extractos húmicos en estudio, hasta alcanzar la saturación del sustrato. A los Testigo 1 y Testigo 2 solo se le aplicaron agua pura, en una cantidad inicial de 2.5 litros.

Número de aplicaciones adicionales: Se realizaron dos aplicaciones adicionales de extractos húmicos (a los 14 y 21 días después de la primera aplicación), con un volumen de 1.5 litros por unidad experimental (T1, T2 y T3). Luego se aplicaron riegos con solo agua.

m. Instalación del cultivo bioindicador

La siembra de la cebada UNA Centenario se realizó a los siete días después de la primera aplicación de los extractos húmicos, cuando el sustrato alcanzó la capacidad de campo. A cada una de las unidades experimentales se colocaron cuatro semillas, debidamente seleccionadas. El cultivo de cebada sirvió como indicador para evaluar el comportamiento biométrico con cada uno de los tratamientos.

3.4. Técnicas e instrumentos de medición.

3.4.1. De las variables en estudio

- a. Porcentaje de germinación relativo (PGR). El % de germinación relativo se determinó mediante el conteo directo de semillas germinadas y plántula emergida sobre la superficie del suelo, el conteo se realizó después de 10 días de la siembra.

Para determinar el porcentaje de germinación relativo se dividió el número total de semillas germinadas en cada tratamiento con extractos húmicos (NSGt), incluido el testigo 2, entre el número total de semillas germinadas en el tratamiento con suelo agrícola (NSGti) (Testigo 1), multiplicado por cien. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$PGR = \frac{NSGt}{NSGti} \times 100$$

- b. Crecimiento de radícula relativo (CRR). Este parámetro se determinó directamente, dividiendo el peso promedio de radícula de cada repetición por tratamiento con extractos húmicos (PPRt), incluido el testigo 2, entre el peso promedio de radícula del tratamiento con suelo agrícola (PPRs), multiplicado por cien. Sirvió para determinar el índice de toxicidad.

$$CRR = \frac{PPRt}{PPRs} \times 100$$

- c. Altura final de plantas. La altura final de planta se determinó mediante mediciones directas, haciendo uso de una regla graduada de 50 cm. Las mediciones se realizaron desde el cuello de la planta hasta el ápice de la hoja bandera. Los datos se registraron en un formato preestablecido para este fin.
- d. Número de tallos. Para la determinación del número de tallos se realizaron conteos directos por tratamiento, se realizó al final del

- experimento, los datos fueron registrados en un formato preestablecido.
- e. **Peso verde.** El peso verde se midió por observación directa, haciendo uso de una balanza de precisión de laboratorio. Las plantas fueron sometidas a un lavado de raíces con agua destilada, para eliminar el sustrato adherido, luego fueron secados con papel toalla. Se pesaron plantas completas (tallos, hojas más raíces). Se registraron los pesos para cada uno de las repeticiones en todos los tratamientos.
 - f. **Peso seco.** Para la determinación del peso seco, las plantas verdes se sometieron a una temperatura 100 °C, con una estufa eléctrica, por un periodo de 20 minutos (con repeticiones sucesivas de 10, 5, 3 y 2 minutos). Se registró el peso verde (peso inicial) y el peso seco (peso final). Se registraron los pesos por repetición de cada uno de los tratamientos en estudio.
 - g. **Índice de toxicidad.** El índice de toxicidad se realizó adaptando el método propuesto por Barbero et al. (2001), donde el índice de germinación (IG) es igual al índice de toxicidad (IT). El IG se calculó directamente, multiplicando el crecimiento de radícula relativo (CRR) por el porcentaje de germinación relativo (PGR), dividido todo entre 100; se utilizó la siguiente fórmula:

$$IG = \frac{CRR \times PGR}{100}$$

- h. El factor de bioacumulación (FB). El factor de bioacumulación (FB) se determinó dividiendo la concentración de metales pesados en plantas de cebada después del experimento, entre la concentración de metales pesados en sustrato antes del experimento. Se determinó directamente con los resultados de los análisis de laboratorio de metales pesados en el sustrato (mg/kg) y los metales pesados en el tejido de la planta bioindicadora (mg/kg).

3.4.2. Caracterización físicas y químicas de los sustratos utilizados en el experimento.

- a. Características físicas del suelo agrícola.

La textura del suelo agrícola se determinó con el método del Hidrómetro de Boyoucus. El suelo presentó una textura franco arenoso; con 67% de arena, 20% de limo y 13% de arcilla. El pH del suelo se determinó con el método del Potenciómetro (electrométrico), presentó una reacción moderadamente ácida, con un pH de 5.58; asimismo presentó una C.E de 0.16 dS/m (Tabla 1).

Tabla 1. Características físicas del suelo agrícola.

Parámetros	Expresión de medida	Contenido
pH		5.58
Conductividad Eléctrica	dS/m	0.16
Arena	%	67
Limo	%	20
Arcilla	%	13
Clase Textural:		Franco Arenoso

b. Características químicas del suelo agrícola

Para la caracterización química del suelo agrícola se realizaron las siguientes determinaciones: porcentaje de materia orgánica (MO) se determinó con el método de Walkley & Black; nitrógeno total, el cual se determinó con el método Kjeldahl; en tanto que la determinación de fósforo (P) se realizó con el método de Olsen modificado; el potasio (K) se determinó con el método de Absorción Atómica (Método de H₂SO₄ 6N).

El suelo agrícola se caracterizó por ser medianamente rico en materia orgánica (2.835 %); medianamente rico en nitrógeno (0.142 %); rico en fósforo, con 0.0026 % (26 ppm) y pobre en potasio, con un contenido de 0.0084 % (84 ppm).

Los cationes cambiabiles se determinaron mediante el método de la Absorción atómica (extracción con agua destilada); en tanto que la acidez cambiabie se determinó con el método de Socolov.

El suelo agrícola presentó 6.62 meq/100g de Ca^{+2} ; 1.52 meq/100g de Mg^{+2} y 0.23 meq /100g de K^{+} y $\text{H}^{+} + \text{Al}^{+3}$ 0.48 meq/ 100g. Asimismo, presentó una capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 8.86 meq/100 g. Asimismo, el suelo agrícola presentó 0.64 meq de SO_4 y 1.73 meq de Cl^{-} . El SO_4 se determinó con en el espectrofotómetro único digital; en tanto que el Cl^{-} , se determinó mediante el método volumétrico (nitrato de plata). Estos resultados se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Características químicas del suelo agrícola.

Parámetros	Expresión de medida	Contenido
Materia orgánica (MO)	%	2.835
Nitrógeno total (Nt)	%	0.142
Fosforo (P)	ppm	26
Potasio (K)	ppm	84
Ca^{+2}	me/100 g.	6.62
Mg^{+2}	me/100 g.	1.52
K^{+}	me/100 g.	0.23
Na^{+}	me/100 g.	0.01
A+Al	me/100 g.	0.48
CIC	me/100 g.	8.86
CaCo_3^{\equiv}	me/100 g.	0.00
SO_4^{\equiv}	me/100 g.	0.64
Cl^{-}	me/100 g.	1.73

c. Caracterización del humus de lombriz.

- Características físico - químico.

El humus presentó alta riqueza de nitrógeno, con 2.19 %; rico en fósforo, con 2.32 % de P_2O_5 ; rico en potasio, con 4.17 % de K_2O ; presentó un pH de 6.72 (reacción neutra). La determinación del pH del humus se realizó con el método del Potenciómetro. Asimismo, presentó una capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 222 meq / 100 g, característica que le permite una mayor capacidad para intercambiar cationes con la solución del suelo; con conductividad eléctrica (CE) de 1.079 dS/m (Tabla 3). La determinación de nitrógeno se realizó con el método Kjeldahl; en tanto que la determinación de fósforo se realizó con el método de Olsen modificado; el potasio se determinó con el método de Absorción Atómica (Método de H_2SO_4 6N).

d. Sustancias húmicas del humus de lombriz.

El humus utilizado en el presente estudio se caracterizó por contener 3.42 % de ácidos húmicos; 1.03 % de ácidos fulvicos y 35.70 % de huminas; asimismo, presentó 25.41 % de carbono orgánico total (COT). Las sustancias húmicas fueron determinadas con el método de Schnitzer (1982). Tabla 4.

e. Caracterización de la materia orgánica de bosques de quebrada (MOQ).

- Características físico – químico de la MOQ.

La materia orgánica de bosques de quebrada (MOQ) se caracterizó por presentar alta riqueza de nitrógeno, con 2.35 %; rico en fósforo, con 2.14 % de P_2O_5 , rico en potasio, con 4.21 % de K_2O . Asimismo, la MOQ presentó las siguientes características: pH de 5.41, lo que le da un carácter ácido, una capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 230 meq/100 g; baja conductividad eléctrica, 0.845 dS/m (Tabla 3).

- Sustancias húmicas de la MOQ.

Por otro lado, la materia orgánica de bosques de quebrada (MOQ), contuvieron sustancias húmicas las que fueron determinadas con el método de Schnitzer (1982); se caracterizó por contener 2.64 % de ácidos húmicos; 2.22 % de ácidos fulvicos y 31.22 % de huminas y 27.26 % de carbono orgánico total (Tabla 4).

Tabla 3 Características físicas y químicas de las fuentes de materia orgánica.

Fuente	Nitrógeno (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	Parámetros		
				pH	CIC (me/100 g de suelo)	C.E (dS/m)
Humus de lombriz	2.19	2.32	4.17	6.72	222	1.079
Materia Orgánica de quebrada	2.35	2.14	4.21	5.41	230	0.845

Tabla 4 Contenido de sustancias húmicas de las fuentes de materia orgánica.

Fuentes orgánicas	Ac. Húmicos (%)	Ac. Fulvicos (%)	Huminas (%)	COT (%)
Humus de lombriz	3.42	1.03	35.70	25.41
Materia orgánica de quebrada.	2.64	2.22	31.22	27.26
Humus comercial	10.00	5.00	42.00	--

f. Caracterización del material de relave minero (MRM).

El sustrato de relave minero de Santa Rosa, se caracterizó por ser de la clase textural franco arenoso; con 79 % de arena, 16% de limo y 5% de arcillas; con un pH de 3.80; con un contenido de 4.58 meq/100 g de Ca⁺², 0.75 meq de Mg⁺², 0.10 meq de Na⁺ y 1.26 meq/100g de H⁺+Al⁺³; asimismo, presentó una Capacidad de Intercambio catiónico (CIC) de

6.86 meq/100 g. Por otra parte, el MRM presentó 0.96 % de SO₄ y 1.48 me/100gr de Cl⁻. No se reporta CaCO₃ en el análisis (Tabla 5).

Tabla 5 Características químicas del material de relave minero.

Parámetros	Expresión de medida	Contenido (me/100gr)
Arena	%	79
Limo	%	16
Arcilla	%	5
Na ⁺	me/100 g.	0.1
A+Al	me/100 g.	1.26
CIC	me/100 g.	6.86
pH		3.80
CaCO ₃ ⁼	me/100 g.	0.00
SO ₄ ⁼	me/100 g.	0.96
Cl ⁻	me/100 g.	1.48
CE	dS/m	1.39

g. Caracterización del sustrato usado en el experimento.

El sustrato utilizado en el experimento fue el material conformado por la mezcla deliberada de suelo agrícola con material de relave minero. La mezcla de suelo agrícola con material relave minero se realizó deliberadamente, a fin de tener una contaminación inducida con metales pesados, cuya remoción por efectos de los extractos húmicos de la materia orgánica se deseó conocer.

h. Características físicas del sustrato usado en el experimento.

Según el análisis antes del experimento, el sustrato utilizado se caracterizó por presentar: una textura franco arenoso, con alta presencia de arena (69%), bajo en limo (21%) y arcilla (10%); presentó una reacción fuertemente ácida, con un pH de 4.68; con una conductividad eléctrica (CE) de 0.783 dS/m (Tabla 6).

Tabla 6 Características físicas del sustrato utilizado en el experimento.

Parámetros	Expresión de medida	Contenido
pH		4.680
Conductividad eléctrica (CE)	dS/m	0.783
Arena	%	69
Limo	%	21
Arcilla	%	10
Clase Textural:		Franco Arenoso

i. Características químicas del sustrato del estudio utilizado en experimento.

En la Tabla 7 se muestran las características químicas de sustrato utilizado en el estudio; se caracterizó por ser medianamente rico en materia orgánica (2.093%), nitrógeno (0.105 %) y fósforo (14 ppm); pobre en potasio (87 ppm), con un contenido de calcio (Ca^{+2}) de 6.59 meq/100g., seguido del magnesio (Mg^{+2}) con 0.83 meq/100 g.; el ion

potasio (K^+), con 0.16 meq/100g.; el ion sodio (Na^+), con 0.04 meq/100g y la presencia de iones de H^+ y Al^{+3} , con una suma de 0.59; presentó, un CIC de 8.21 me/100g. Asimismo, presentó los siguientes aniones cambiabiles: SO_4 con 0.46 meq/100gr., Cl^- , con 2.34 meq/100 gr, no se reporta $CaCO_3$.

Tabla 7 Características químicas del sustrato utilizado en el experimento.

Parámetros	Expresión de medida	Contenido
Materia orgánica (M.O)	%	2.093
Nitrógeno total (Nt)	%	0.105
Fosforo (P)	ppm	14.000
Potasio (K)	ppm	87.000
Ca^{+2}	me/100 g.	6.59
Mg^{+2}	me/100 g.	0.83
K^+	me/100 g.	0.16
Na^+	me/100 g.	0.04
A+Al	me/100 g.	0.59
CIC	me/100 g.	8.210
$CaCo3^=$	me/100 g.	0.00
$SO4^=$	me/100 g.	0.46
Cl^-	me/100 g.	2.34

- j. Contenido metales pesados del sustrato utilizado en el experimento.

La determinación de estos parámetros fue fundamental, debido a la naturaleza y objetivos del presente trabajo de investigación. En la Tabla 8 se presenta los resultados del análisis de laboratorio antes del experimento, sobresale el Plomo (Pb), con mayor concentración, alcanzando 459.44 ppm, concentración que supera los ECA para el suelo, establecido en el D.S N° 011-2017-MINAM (70 mg / Kg). Asimismo, el sustrato alcanzó una concentración de Cu de 102.28 ppm, concentración que supera la Norma Holandesa (36 mg/Kg). El Zinc (Zn) alcanzó una concentración de 17.73 ppm, muy por debajo de los estándares de la Norma Holandesa (140 mg/Kg), y finalmente el Cadmio (Cd) con una concentración de 0.32 ppm, por debajo de los estándares del ECA para suelo del Perú (1.4 mg/Kg).

Tabla 8 Concentración de metales pesados del sustrato utilizado, antes del experimento y su comparativo con ECA suelo.

Metales pesados	Contenido (ppm)	ECA Suelo Perú (ppm)	Legislación Holandesa (ppm)
Zinc	17.73		140
Cobre	108.28		36
Plomo	459.44	70	85
Cadmio	0.32	1.4	0.8

3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos

Los datos de campo de esta investigación fueron ordenados en cuadros con la ayuda del Excel, posteriormente fueron procesados haciendo uso del programa estadístico SPSS Statistics, versión 18.

Capítulo IV.
RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados.

Tabla 9. Resultados del análisis de Zn, Cu, Pb y Cd, en el sustrato experimental, al final del experimento.

Tratamientos	Metales pesados (ppm)			
	Zn	Cu	Pb	Cd
T1	18.23	108.91	411.07	0.33
T2	18.30	108.16	383.05	0.34
T3	18.59	109.72	405.35	0.27
Testigo 1	17.65	75.91	23.00	0.33
Testigo 2	17.85	109.83	397.08	0.33

Tabla 10. Concentración de Zn, Cu, Pb y Cd, en sustancias húmicas, antes del experimento.

Extracto húmico:	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Pb (ppm)	Cd (ppm)
De humus fromulado (T1)	0.22	0.08	0.009	0.094
De humus de lombriz (T2)	0.16	0.07	0.014	0.067
De Materia orgánica de bosque de quebrada (T3)	0.26	0.07	0.019	0.193

Tabla 11. Variables biométricas obtenidas después del experimento.

Variables biométricas	Tratamientos				
	T1	T2	T3	Testigo 1	Testigo 2
Altura de planta (cm)	24,767	38,500	32,933	33,400	22,933
N° de tallos	1,000	2,750	1,333	1,167	,750
Peso verde (g)	3,533	14,100	7,417	7,750	1,717
Peso seco (g)	1,073	3,863	1,657	1,007	,440
Peso de raíces (g)	1,496	2,167	1,067	2,083	,433

Tabla 12. Determinación promedio del porcentaje de germinación relativo, crecimiento de radícula relativo e índice de toxicidad de los metales, por tratamientos.

Determinaciones	Tratamientos				
	T1	T2	T3	Testigo 1	Testigo 2
% germinación relativo	91,667	100,000	100,000	100,000	83,333
Crecimiento Radicular Relativo	72,003	104,283	51,4967	100,000	20,860
Índice de toxicidad promedio	66.003	104,283	51,4967	100,000	17,383

Tabla 13. Medición de metales pesados absorbidos por la cebada al final del experimento.

Tratamientos	Parámetros (mg/Kg)				Total
	Zn	Cu	Pb	Cd	
T1	32	222	464	0.05	718.05
T2	21	129	146	0.05	296.05
T3	25	229	121.5	0.03	375.53
Testigo 1	27	176	8.5	0.05	211.55
Testigo 2	21	313	145.95	0.03	479.98

Tabla 14. Factor de bioacumulación (FB) para el Zn, Cu, Pb y Cd por tratamientos.

Tratamientos	Parámetros				Total
	Zn	Cu	Pb	Cd	
T1	1.805	2.050	1.010	0.156	5.021
T2	1.184	1.191	0.318	0.156	2.850
T3	1.410	2.115	0.264	0.094	3.883
Testigo 1	1.555	2.358	0.371	0.156	4.440
Testigo 2	1.184	2.891	0.318	0.094	4.487

4.2. Prueba de hipótesis.

Tabla 15. Análisis de varianza de la concentración de Zn, Cu, Pb y Cd, en el sustrato, antes y después del experimento.

Muestras apareadas antes y después	Media	Desv. Desviac	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig (bilateral)
				Inferior	Superior			
Zn en suelo - Zn suelo final	-,468	,26099	,06739	-,61253	-,32347	-6,945	14	,000
Cu en suelo - Cu suelo final	-,952	,64534	,16663	-1,3093	-,59462	-5,713	14	,000
Pb en suelo - Pb suelo final	48,226	26,836	6,92909	33,645	63,0871	6,960	14	,000
Cd en suelo - Cd suelo final	,0000	,02619	,00676	-,01450	,01450	,000	14	1,000

Tabla 16. Análisis de varianza para altura de planta y número de tallos.

Fuentes de variación		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura planta (cm)	Inter-grupos	505,369	4	126,342	27,804	,000
	Intra-grupos	45,440	10	4,544		
	Total	550,809	14			
N° de tallos	Inter-grupos	7,392	4	1,848	10,817	,001
	Intra-grupos	1,708	10	,171		
	Total	9,100	14			

Tabla 17. Prueba de Tukey para altura de planta.

Altura planta (cm)			
HSD de Tukey			
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo 2	3	22,933	
T1	3	24,766	
T3	3		32,933
Testigo 1	3		33,400
T2	3		38,500

Tabla 18. Prueba de Tukey para número de tallos.

HSD de Tukey ^a			
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo 2	3	,750	
T1	3	1,000	
Testigo 1	3	1,166	
T3	3	1,333	
T2	3		2,750

Tabla 19. Análisis de varianza para peso verde, peso seco y peso de raíces.

ANOVA						
Fuentes de variación		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso verde	Inter-grupos	273,092	4	68,273	22,922	,000
	Intra-grupos	29,785	10	2,978		
	Total	302,877	14			
Peso seco	Inter-grupos	21,302	4	5,325	36,919	,000
	Intra-grupos	1,442	10	,144		
	Total	22,744	14			
Peso de raíces	Inter-grupos	6,292	4	1,573	186,532	,000
	Intra-grupos	,084	10	,008		
	Total	6,377	14			

Tabla 20. Prueba de Tukey para peso verde.

HSD de Tukey ^a				
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo 2	3	1,716		
T1	3	3,533	3,533	
T3	3		7,417	
Testigo 1	3		7,750	
T2	3			14,100

Tabla 21. Prueba de Tukey para peso seco (g)

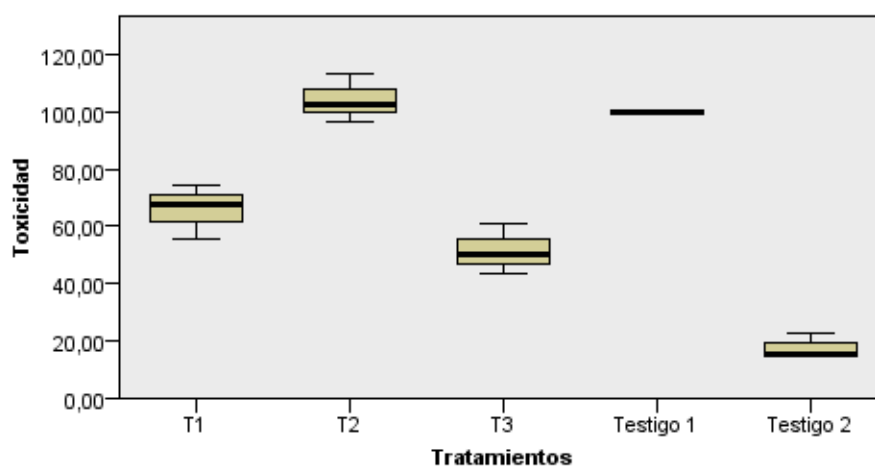
HSD de Tukey ^a				
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo 2	3	,440		
Testigo 1	3	1,007	1,007	
T1	3	1,073	1,073	
T3	3		1,657	
T2	3			3,863

Tabla 22. Prueba de Tukey para peso de raíces.

HSD de Tukey ^a					
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Testigo 2	3	,433			
T3	3		1,067		
T1	3			1,497	
Testigo 1	3				2,083
T2	3				2,167

Tabla 23. Análisis de varianza para índice de toxicidad.

ANOVA					
Índice de toxicidad					
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	15491,537	4	3872,884	74,596	,000
Intra-grupos	519,182	10	51,918		
Total	16010,718	14			



N total	15
Estadístico de contraste	12,724
Grados de libertad	4
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,013

Figura 4. Prueba de Kruskal - Wallis para índice de toxicidad.

Tabla 24. Prueba de Tukey para Índice de toxicidad

HSD de Tukey ^a				
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo 1	3	17,537		
T3	3		51,497	
T1	3		65,857	
Testigo 2	3			100,000
T2	3			104,283

Tabla 25. Prueba de t de Student para bioacumulación de Zn, Cu, Pb y Cd.

	Diferencias relacionadas			t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio			
Tratamientos - Bioacumu Zn	1.573	1.605	0.415	3.796	14	0.002
Tratamientos - BioacumuCu	0.879	1.117	0.288	3.048	14	0.009
Tratamientos - BioacumuPb	2.544	1.672	0.432	5.892	14	0.000
Tratamientos - BioacumuCd	2.868	1.485	0.383	7.482	14	0.000

4.3. Discusión.

Concentración de Zn, Cu, Pb y Cd en sustrato antes y después del experimento.

En la Tabla 8 y Tabla 9 se presentan los resultados de los análisis realizados al sustrato antes y después del experimento; en ambos casos se observó que tanto el Zn, como el Cd se encontraron por debajo de los ECA para suelo de la Norma Peruana, que establece un límite de 1.4 mg/kg, para el Cd, y la Norma holandesa que establece 140 mg/kg para el Zn.

Asimismo, en ambas Tablas se observa que el Pb se encontró en concentraciones que superaron la ECA para suelo de la norma peruana (70 mg/Kg) y la norma holandesa (85 mg/kg); también se observa que el Cu, antes y después del experimento se encontró en concentraciones que superaron el estándar de calidad de suelos de la norma holandesa (36 mg/Kg).

En este mismo análisis se encontraron diferencias estadísticas entre la concentración de Zn, Cu y Pb en el sustrato antes del experimento y después del experimento (Tabla 15); sin embargo, llama la atención los resultados negativos de la media diferencial (antes del experimento - después del experimento) para el caso del Zn y Cu, con resultados negativos (-0.468 y - 0.952, respectivamente), evidenciando un ligero incremento después del experimento, probablemente por algunas deficiencias en la ejecución del ensayo en laboratorio.

Asimismo; la media diferencial para Pb, tuvo resultados positivo (48.226); este resultado indica que hubo una reducción de la concentración del Pb después del experimento. Por otro lado, no se encontró significancia estadística en la media diferencial para el Cd.

Concentración de Zn, Cu, Pb y Cd en extractos húmicos utilizados en el experimento.

En la Tabla 10 se presenta los resultados del análisis realizado a los extractos húmicos antes del experimento, se aprecia que todos los extractos contienen Zn, Cu, Pb y Cd; resaltando el Zn, el cual se encuentra en mayor concentración en todos los extractos húmicos con 0.22 ppm (T1), 0.16 ppm (T2) y 0.26 ppm (T3), en relación al Cu, Pb y Cd. La concentración de Zn, Cu, Pb y Cd fue muy baja y, por lo tanto, su aporte en los 5.5 litros aplicado a cada unidad experimental resultaría ser muy baja.

Variables biométricas.

En la Tabla 11 se muestran los resultados de respuestas de las variables biométricas de la planta bioindicadora (cebada UNA Centenario); se encontró diferencias en las respuestas de las variables biométricas para cada uno de los tratamientos; numéricamente resaltó los resultados obtenidos con los tratamientos T2 (extracto húmico de humus de lombriz), T3 (extracto húmico de materia orgánica de bosques de quebrada).

Altura de planta.

Se encontró diferencia estadística entre los tratamientos, para la altura de plantas (Tabla 16). Mediante la prueba múltiple de Tukey al 5% de error (Tabla 17), se observó que los tratamientos T2 (extractos húmicos de humus de lombriz) y T3 (extractos de materia orgánica de bosques de quebrada), superaron estadísticamente al tratamiento T1 (extracto de húmico formulado); incluso estos tratamientos superaron en altura al Testigo 2.

No se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos T2 y T3 e incluso de estos con el Testigo 1.

La mayor altura de plantas alcanzada con el tratamiento T2, en relación a los tratamientos T1 y T3, puede atribuirse a la mejor interacción entre los ácidos húmicos contenidos en el extracto del humus de lombriz y los metales pesados en estudio (Nieto et al., 2011); asimismo, se explica porque las partículas sólidas coloidales del extracto húmico pudieron haber contribuido a la mejor retención y/o inmovilización de los metales (Madrid, citado por Cires 2009), evitando de esta manera efectos negativos en crecimiento de las plantas.

Con el Testigo 2 se obtuvo la menor altura de planta (22.933 cm), tal como se observa en la Tabla 11 y Tabla 17; probablemente se debió a los efectos de la disponibilidad de los metales pesados en el sustrato, al no contar con extractos húmicos, a lo que se suma las condiciones de pH muy ácido (4.68)

del sustrato experimental que pudo haber contribuido a la disponibilidad de los metales pesados y causar inhibición del crecimiento de la planta.

La disponibilidad de metales pesados como el Zn en altas concentraciones ocasiona enanismo en plantas (Rout y Das, citados por Vargas, Martinez, Ortiz y López, 2007); valores altos de plomo, reducen drásticamente el crecimiento de los cultivos (Bergmann, citado por Miranda, et al., 2008); asimismo la presencia de Cu en concentraciones superiores a $2\mu\text{M}$ inhiben el crecimiento de las plantas.

Número de tallos.

Se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos para número de tallos (Tabla 16). Con la prueba múltiple de Tukey, $\alpha=0.05$ (Tabla 18), se encontró que el tratamiento T2 (extractos húmicos de humus de lombriz) superó estadísticamente a los resultados de los tratamientos T1 y T3 e incluso supera a los testigos T1 y T2; por otro lado, con el Testigo 2 se obtuvieron menor número de tallos por planta (Tabla 11 y Tabla 18).

El mayor número promedio de tallos obtenidos en el tratamiento T2, en relación al número promedio de tallos obtenidos en los tratamientos T1 y T3, se puede atribuir a la mejor interacción de los ácidos húmicos contenidos en los extractos húmicos con el Zn, Cu, Pb y Cd del sustrato utilizado para el

estudio, los mismos que pudieron haber sido inmovilizados evitando de esta manera efectos tóxicos inhibitorio en la cebada.

Por otro lado, el menor número de tallos obtenidos con el Testigo 2, se puede explicar por los efectos tóxicos de los metales, los mismos que pudieron haber inhibido ciertos procesos fisiológicos de las plantas (Rout y Das, citados por Vargas et al., 2007), pudiendo haber sido uno de estos procesos inhibido la emisión de tallos secundarios o macollos en el cultivo de cebada, al no contar con extractos húmicos en el sustrato utilizado para el estudio.

Peso verde, y peso seco.

Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para el peso verde de la cebada (Tabla 19). Con la prueba múltiple de Tukey para esta variable biométrica (Tabla 20) se observó que el tratamiento T2, supera estadísticamente a los tratamientos T1 y T3, e incluso superó a los dos testigos.

Este resultado puede explicarse por la posible interacción entre los ácidos húmicos contenidos en el extracto de T2 y el Zn, Cu, Pb y Cd; los metales pesados son inmovilizados por las sustancias húmicas, impidiendo ser absorbidos por las raíces (Skodowski, Maciejewska y Kwiatkowska, 2006), evitando la inhibición de los procesos fisiológicos de crecimiento y peso verde.

No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos T1 y T3; sin embargo, comparativamente, estos superan estadísticamente al Testigo 2, resultados que explican el posible efecto de los extractos húmicos formulados y los extractos de materia orgánica de bosque de quebrada en la inmovilización del Zn, Cu, Pb y Cd, que impidieron ser absorbidos por las raíces (Skodowski, Maciejewska y Kwiatkowska, 2006), evitando la inhibición de los procesos fisiológicos de peso verde.

El menor peso verde se obtuvo con el testigo 2 (1.716 g), este resultado se explica, porque el sustrato del estudio no contenía extractos húmicos que pudieron haber interactuado con el Zn, Cu, Pb y Cd, lo que posiblemente originó efectos tóxicos inhibitorios que afectaron el crecimiento y peso verde.

En la evaluación del peso seco, se observa la misma tendencia que para el peso verde; con el tratamiento T2 se obtuvo el mejor resultado (3,863 g), superando estadísticamente a los tratamientos T1 y T3, incluso a los testigos (Tabla 11 y Tabla 21).

El mejor resultado del T2 se puede explicar similarmente a los resultados de peso verde, debido a que los ácidos húmicos del extracto húmico de humus de lombriz pudieron haber inmovilizado con mejor efecto al Zn, Cu, Pb y Cd, evitando la disminución del peso seco.

No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos T1 y T3 para peso seco; sin embargo, estos tratamientos superaron estadísticamente al testigo 2, por lo que se considera que también tuvieron efecto en la

inmovilización de metales pesados, superado solo por el tratamiento T2; al respecto Galan y Romero (2008), afirman que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio o quelatos; la adsorción puede ser tan fuerte que estos metales quedan estabilizados, como el caso del Cu, o formen quelatos también muy estables, como puede pasar con el Pb y Zn.

Peso de raíces.

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para peso de raíces (Tabla 19), resaltando el tratamiento T2, que superó numérica y estadísticamente a los tratamientos T1 y T3 (Tabla 11 y Tabla 22).

El mejor peso de raíces obtenido con el tratamiento T2 se puede explicar porque los ácidos húmicos contenidos en los extractos del humus de lombriz pudieron haber inmovilizado al Zn, Cu, Pb y Cd en la fase sólida del sustrato, de manera tal que pudo haber impedido la absorción radicular de los metales por las plantas (Stevenson, 1994, citado por Nieto et. Al., 2011), evitando efectos negativos en el peso de raíces.

El menor peso de raíces se obtuvo con el Testigo 2 (0.433 g); este resultado fundamenta su explicación, tan igual a los otros bioindicadores, que el sustrato del estudio no contó con extractos húmicos, en consecuencia, el Zn, Cu, Pb y Cd, pudieron haber quedado disponibles para las raíces, causando la

inhibición del crecimiento de las mismas; al respecto, Ivanov et al. (citados por Vargas et al., 2007), afirma que uno de los síntomas de la toxicidad ocasionada por el plomo es la disminución del crecimiento de la raíz.

Similarmente Rout y Das (citados por Vargas et al., 2007), reportan que el exceso de zinc inhibe el crecimiento de la raíz; asimismo estos autores indican que el cobre, cadmio, cinc, plomo y el níquel pueden inhibir ciertos procesos fisiológicos de las plantas y que pueden afectar el crecimiento de algunos órganos como la raíz.

A la luz de los resultados plasmados en las variables biométricas del cultivo indicador, se evidenció una posible inmovilización del Zn, Cu, Pb y Cd por efecto de los extractos húmicos de las tres fuentes de materia orgánica utilizada, observándose mejor performance con el tratamiento T2.

Al respecto de lo anterior, Prieto, et al., (2005) afirma, que los metales pesados pueden quedar asociados con la materia orgánica del suelo; coincidentemente, Galán y Romero (2008), afirman también que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio o quelatos; asimismo, indican que pueden estabilizar fuertemente, mediante la adsorción al Cu o formar quelatos muy estables con el Pb y Zn.

En este mismo sentido Weng et al., (citado por Cires, 2009), afirma también que la materia orgánica es el adsorbente más importante en la retención de Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} y Ni^{2+} .

Las afirmaciones y los bioindicadores observados sugieren que los extractos húmicos de los tratamientos T2, T3 y T1 inmovilizaron el Zn, Cu, Pb y Cd, evitando toxicidad e inhibición de procesos biológicos de la planta bioindicadora.

Índice de toxicidad

En la Tabla 12 se presenta el índice de toxicidad promedio obtenidos con cada uno de los tratamientos, se observa que el tratamiento T2 presentó menor índice de toxicidad (104.28), seguido de los tratamientos T1 (66.003), el tratamiento T3 (51.50); finalmente testigo 2 (T5), con un IG de 17.5367.

Asimismo, se encontró diferencias estadísticas significativas para índice de toxicidad entre tratamientos (Tabla 23 y Figura 4). La prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) de la Tabla 24, indica que el tratamiento T2 superó estadísticamente a los tratamientos T1 y T3, por lo que se asume que este tratamiento presentó mejor performance para la remoción de los metales pesados (Zn, Cu, Pb y Cd).

Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos T1 y T3 (Tabla 24), por lo que se asume que ambos tratamientos tendrían similares efectos en la inmovilización del Zn, Cu, Pb y Cd; asimismo, se observó que todos los tratamientos superaron estadísticamente al Testigo 2,

en consecuencia, se evidencio una alta probabilidad de la inmovilización del Zn, Cu, Pb y Cd por los extractos húmicos de los tratamientos T1, T2 y T3.

De lo anterior se puede deducir que la menor toxicidad obtenida por el tratamiento T2, puede ser atribuible a la mejor interacción de los extractos húmicos del humus de lombriz con el Zn, Cu, Pb y Cd, que impidieron generar efectos fitotoxicos en el proceso de germinación y crecimiento radicular.

En contraste con lo anterior, se encontró alta toxicidad con el Testigo 2, efecto que se puede explicar porque el sustrato utilizado para el estudio no contenía extractos húmicos, por lo tanto, el Zn, Cu, Pb y Cd, sumado al carácter fuertemente ácido del mismo podrían haber generado efectos tóxicos en la planta bioindicadora; al respecto Tiquia y Tam, 1998 (citado por Camarillo, et al, 2015), sugieren que un $IG \leq 80 \%$ indica un probable evento tóxico en la germinación y crecimiento radicular.

En este contexto se evidenció que los ácidos húmicos podrían tener mayor capacidad para enlazar con el Zn, Cu, Pb y Cd, formando posibles enlaces más estables y difíciles de solubilizar en el suelo, impidiendo efectos fitotoxicos. Este resultado coincide de Peruzzi et al. 2011 (citado por Camarillo et al., 2015), quienes afirman que el crecimiento normal o estimulada de las raíces y la germinación es debido a la conocida capacidad de la materia orgánica para inmovilizar metales, haciéndola así menos tóxica para las plantas.

Factor de bioacumulación (FB)

En las Tabla 13 se presenta la concentración de Zn, Cu, Pb y Cd en tejido vegetal después del experimento, y en la Tabla 14 se presenta el factor de bioacumulación (FB) por metal en estudio y por tratamiento, en ambas Tablas se aprecia que se obtuvieron diferentes respuestas del Zn, Cu, Pb y Cd a la absorción por las raíces y su bioacumulación en el tejido de la cebada.

Biacumulación del Zinc

Se encontró diferencias estadísticas entre tratamientos para el Zn (Tabla 25), habiéndose obtenido menor factor bioacumulación de Zn con el tratamiento T2 (1.184), seguido del tratamiento T3 (1.41) y el tratamiento T1 (1.805). Resaltó el T2 con mejor performance para inmovilizar los metales pesados, dada las evidencias de los resultados.

Llamó la atención la bioacumulación de Zn obtenida con el Testigo 2 debido a que se obtuvo similar resultado al T2; pues dado la condición del sustrato al, no contar con extractos húmicos, el Zn pudo haberse acumulado en mayores concentraciones en las plantas; sin embargo, se hace necesario resaltar que en el Testigo 2 se obtuvieron mayor toxicidad y menor pesos de raíces que podrían haber afectado la absorción y en consecuencia mayor bioacumulación, dada las condiciones de pH muy ácido del sustrato.

Por otro lado, la más baja bioacumulación obtenida con los extractos húmicos de humus de lombriz (T2) se puede explicar porque los ácidos húmicos contenidos en este extracto pudieron haber interactuado e inmovilizado y acumulado al Zn en la parte sólida del sustrato, por lo que pudo controlar la absorción del Zn por las raíces (Stevenson, citado por Nieto et. Al., 2011).

A la luz de los resultados, se puede observar que el Zn presentó afinidad con los extractos húmicos, según el orden siguiente: $T2 > T3 > T1$.

Bioacumulación del Cobre

Se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos para la bioacumulación del cobre (Tabla 25), por consiguiente, se presume que los extractos húmicos interactuaron con este metal, obteniendo una respuesta diferente en la absorción y acumulación en el tejido vegetal.

En este mismo sentido, se observó que con el Testigo 2 se obtuvo la más alta bioacumulación de Cu, resultado que se podría atribuir a la mayor disponibilidad de este metal dada las características de pH muy bajo y, básicamente a la falta de extractos húmicos (Tabla 14).

Por otro lado, en los resultados se evidenció menor acumulación de Cu con los tratamientos T2, T1 y T3, respectivamente (Tabla 14), obteniéndose mejor performance con el T2. Estos resultados en comparación con la acumulación

del Testigo 2, evidencio un posible efecto de los extractos húmicos en la inmovilización del Cu, evitando su absorción y acumulación en el tejido de la cebada.

Según los resultados, se puede observar que el Cu presentó afinidad con los extractos húmicos, según el orden siguiente: T2 > T1 > T3.

Bioacumulación del plomo.

En la Tabla 13 se aprecia que la menor concentración de Pb en tejido de cebada después del experimento se obtuvo con el tratamiento T3 (121.5 mg/kg), seguido del tratamiento T2 (146 mg/Kg) y el tratamiento T1 (464 mg/Kg).

Se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos para la bioacumulación de Pb (Tabla 25); esto dio a entender la existencia de respuestas diferentes del plomo para interactuar con las sustancias húmicas contenidos en los extractos húmicos en estudio, dando lugar a una menor absorción y acumulación de este metal en el tejido de las plantas de cebada.

Llamó la atención la bioacumulación de Pb obtenida con el Testigo 2 debido a que presentó similar resultado que el T2; asimismo, presento menor bioacumulación que el T1; pues dado la condición del sustrato al no contar con extractos húmicos, el Pb pudo haberse absorbido y acumulado en mayores concentraciones en las plantas; sin embargo, se hace necesario tener

en cuenta que en el Testigo 2 se obtuvieron mayor toxicidad y menor peso de raíces, hechos que podrían haber afectado la absorción y en consecuencia mayor bioacumulación del Pb, dada las condiciones de pH muy ácido del sustrato.

Los menores factores de bioacumulación de plomo se obtuvieron con los tratamientos T3, T2 y T1 (Tabla 14); sin embargo, los tratamientos T3 y T2 presentaron mejor performance; en consecuencia, se puede evidenciar que los extractos húmicos de materia orgánica de bosque de quebrada y los extractos de humus de lombriz pudieron haber interactuado con el Pb, evitando mayor absorción y por ende mayor acumulación.

Según los resultados, se puede observar que el Pb presentó afinidad con los extractos húmicos, según el orden siguiente: $T3 > T2 > T1$.

Bioacumulación del Cadmio.

Se encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos para la bioacumulación del cadmio (Tabla 25), este resultado hace presumir que los extractos húmicos interactuaron con este metal, obteniendo una respuesta diferente en la absorción y acumulación en el tejido vegetal, a pesar de las bajas concentraciones en el sustrato utilizado para el experimento.

Asimismo, se obtuvo menor bioacumulación de cadmio con el tratamiento T3, en relación a los tratamientos T1 y T2 (Tabla 14), esto evidenció que los

extractos húmicos de materia orgánica de quebrada presentaron mejores condiciones para inmovilizar al Cd; sin embargo, llamó la atención la bioacumulación obtenida en el Testigo 2 (0.094), con similar resultado que el T3 e incluso con menor bioacumulación obtenidos en los tratamientos T1 (0.156) y T2 (0.156).

Al respecto de los resultados del Testigo 2, se explica por el menor peso de raíces obtenidos en este tratamiento control (Tabla 11), raíces que probablemente sufrieron efectos fitotóxicos por la posible acción combinada del Zn, Cu, Pb y Cd que pudieron haber causado atrofas (Tabla 12), impidiendo mayor absorción y bioacumulación, dada las condiciones de pH muy ácido del sustrato y básicamente por no contar con extractos húmicos.

Bioacumulación de la interacción total de Zn, Cu, Pb y Cd.

Se analizó el total de la bioacumulación del Zn, Cu, Pb y Cd por tratamiento (Tabla 14), observándose que con los tratamientos T2 y T3 se obtuvieron menores factores de bioacumulación, resultados que sugieren una mejor interacción de los extractos húmicos de humus de lombriz (T2) y los extractos húmicos de la materia orgánica de bosques de quebrada (T3) con los metales pesados en estudio, interacción que probablemente inmovilizó los metales y evito una mayor absorción y bioacumulación del Zn, Cu, Pb y Cd en el tejido de la cebada.

Las evidencias anteriores coinciden con el trabajo de Skodowski, Maciejewska y Kwiatkowska (2006), quienes demostraron que la materia orgánica provocó una disminución notable en el contenido de Cd, Pb y Zn en plantas de centeno.

Los resultados de la Tabla 14, evidenciaron un orden de preferencia de los tratamientos para remover los metales pesados estudiados:

- Zinc: $T2 > T3 > T1$.

- Cobre: $T2 > T3 > T1$.

- Plomo: $T3 > T2 > T1$.

- Cadmio: $T3 > T2 = T1$.

Observándose claramente mejor performance de los tratamientos T2 y T3.

De igual modo, con los resultados de la Tabla 14 se ha podido inferir el grado de adsorción y preferencia del Zn, Cu, Pb y Cd por los extractos húmicos utilizados en la investigación:

T1: $Cd > Pb > Zn > Cu$

T2: $Cd > Pb > Zn > Cu$

T3: $Cd > Pb > Zn > Cu$

Testigo 2: $Cd > Pb > Zn > Cu$.

Estos resultados coinciden, en parte, con Cortés et al. (2015), quienes encontraron una selectividad de adsorción de los metales pesados con base en valores de máxima capacidad de adsorción por los ácidos húmicos, los que siguieron el siguiente orden de preferencia: $Cd > Pb > Cu > Ni > Zn$.

Finalmente, en relación a todo lo discutido y dada las evidencias de los resultados, podemos inferir una alta probabilidad de interacción complejante de los extractos húmicos con el Zn, Cu, Pb y Cd, hecho que supone la remoción de estos metales; asimismo, se observó que para todos los resultados los tratamientos T2 y T3 presentaron mejor performance; no se encontraron resultados satisfactorios con el T1.

Conclusiones.

- Se encontraron diferencias en el comportamiento entre el humus formulado (T₁), los extractos húmicos de humus de lombriz (T₂) y extracto húmico de materia orgánica de bosque de quebrada (T₃); siendo los tratamientos T₂ y T₃ los que evidenciaron mejores condiciones para remover el Zn, Cu, Pb y Cd; resaltando el T₂ con mejor performance; conclusión que se sustenta en la menor absorción y acumulación de estos metales en el tejido de la planta de cebada.
- El extracto húmico de humus de lombriz (T₂) tubo mejor comportamiento en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd, al evidenciar:
 - Menor índice de toxicidad superando a los otros tratamientos en el siguiente orden: extractos húmicos de humus de lombriz (T₂) < humus formulado (T₁) < extractos húmicos de materia orgánica de quebrada (T₃).
 - Menor factor de bioacumulación para todos los metales en estudio; por lo tanto, la bioacumulación del Zn, Cu, Pb y Cd en plantas de cebada se vio controlada por los extractos húmicos en el siguiente orden de preferencia: T₂ > T₃>T₁.
- Se evidenció que la afinidad y remoción del Zn, Cu, Pb y Cd por los extractos húmicos siguieron el siguiente orden:
 - Para el Zn: extractos húmicos de humus de lombriz > extractos húmicos de materia orgánica de bosque de quebrada > extractos húmicos de humus formulado (T₂>T₃>T₁).

- Para el Cu: extractos húmicos de humus > extractos húmicos de materia orgánica de quebrada > extractos húmicos de humus formulado (T2>T3>T1).
- Para el Pb: extractos húmicos de materia orgánica de quebrada > extractos húmicos de humus > extractos húmicos de humus formulado (T3>T2>T1).
- Para el Cd: extractos húmicos de materia orgánica de quebrada > extractos húmicos de humus de lombriz > extracto húmico de humus formulado (T3>T2>T1).
- Los extractos húmicos ejercieron control en la remoción de los metales pesados en estudio, al reducir la disponibilidad en el suelo franco arenoso, con la evidente formación de complejos coloide – metal, cuya afinidad con estos metales siguió el siguiente orden: Cd > Pb > Cu > Zn; conclusión que coincide con los resultados encontrados por Cortés, *et al.* (2014).
- No se encontraron resultados satisfactorios en la aplicación de tres extractos húmicos en la remoción de Zinc, Cobre, Plomo y Cadmio, en suelos franco arenosos contaminados.

Recomendaciones.

Se recomienda:

- Utilizar el extracto húmico de humus de lombriz para la remoción de metales pesados en suelos contaminados, por haber demostrado resultados satisfactorios a nivel de macetas en suelo franco arenoso.
- Realizar el presente estudio de investigación a nivel de parcelas de campo, para determinar su eficacia en la recuperación de suelos contaminados a este nivel; ampliar la investigación a otros metales.
- Realizar un trabajo de investigación para determinar la eficacia del humus a diferentes grados de madurez, en la remoción de metales pesados a nivel decampo.

Referencias bibliográficas

- Abrego, F. (2012). *Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico*. Universidad Nacional Noroeste Buenos Aires. Recuperado de https://agroindustria.gob.ar/sitio/areas/proinsa/informes/_archivos//002012_Ronda%202012/000300_Lic.%20Fabio%20L.%20Abrego%20-%20UNNOBA/000300_Determinaci%C3%B3n%20de%20CIC.pdf.
- Acosta, Y., Paolini, J. y Benítez, E. (2004). *Índice de humificación y prueba de fitotoxicidad en residuos orgánicos de uso agrícola potencial*. Universidad del Zulia. Venezuela. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-8182004000400008&script=sci_arttext.
- Aguilar, F., Bolaños, R. y Villamar, J. (2017). *Fundamentos epistemológicos para orientar el desarrollo del conocimiento*. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. Recuperado de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14904/1/Fundamentos%20epistemologicos.pdf>.
- Aldaba, G. (2013). *Identificación de líneas mutantes de cebada (*Hordeum vulgare* L.) Con valor agronómico y calidad en una población Ms DE LA variedad UNA - La Molina 96 desarrollada con irradiación gamma* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1497/t006821.pdf?sequence=1>.

Ambar, R.; Sael, E.; Flores, D.; Quevedo, N. y Valdés, R. (2005). *La Biorremediación, un método para descontaminar áreas agrícolas*. Universidad Agraria de la Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”. Recuperado de: <http://www.fitorem.unah.edu.cu/Producci%C3%B3n%20Cient%C3%ADfica/Monografias/Monografia%20Biorremediacion.pdf> .

Amezcuca, R. y Lara, M. (2017). *El zinc en las plantas*. Revista Ciencia 68 (3), 28-35 páginas. México. Recuperado de: https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_3/PDF/zinc_plantas.pdf.

Bravo, I.; Arboleda, C. y Martin, F. (2014). *Efecto de la calidad de la materia orgánica asociada con el uso y manejo de suelos en la retención de cadmio, en sistemas altoandinos de Colombia*. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n2/v63n2a09.pdf>.

Beltrán, M. (2001). *Fitoextracción en suelos contaminados con cadmio y zinc usando especies vegetales comestibles* (Tesis de post grado). Universidad Autónoma Metropolitana. México. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11191/185>.

Cabezas, J.; Alonso, J.; Pastor, J; Sastre-Conde, I.; y Lobo, (2004). *Absorción y acumulación de metales pesados en tres especies Vegetales en suelos*

enmendados con lodos de depuradora. México. Recuperado de:
<https://digital.csic.es/bitstream/10261/52285/1/absorcionyacu2004852.pdf>.

Cires, A. (2009). *Stress nutricional de las plantas*. Fisiología Vegetal ambiental. Recuperado de http://rodas.us.es/file/964677bf-80be-9135-8064-2ec958533780/1/estes_nutricional_texto_SCORM.zip/files/estres_nutricional_texto.pdf.

Cortez, L.; Bravo, I.; Martín, F. y Menjivar, J. (2014). *Adsorción de metales pesados en andisoles, vertisoles y ácidos húmicos*. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/44924/1/43677-217472-1-PB.pdf>.

Corrales, I. (2011). *La toxicidad del cobre en el maíz*. Departamento de Biología Animal, de Biología Vegetal y de Ecología. España. Recuperado de <http://www.uab.cat/web?cid=1096481466568&pagename=UABDivulga%2FPage%2FTemplatePageDetallArticleInvestigar¶m1=1307340017345>.

Comisión Nacional del Medio Ambiente, Departamento de Descontaminación, Planes y Normas (2000). *Normas de la calidad del compost*. Chile. Recuperado de <http://www.lombricultura.cl/lombricultura.cl/userfiles/file/biblioteca/normas/Norma%20calidad%20COMPOST.pdf>.

Cruz, M; Celis, T. Hermosin, M. y Cornejo, J. (2002). *Adsorción-desorción de los metales pesados Pb (II) y Hg (II) por modelos de partículas coloidales del suelo*. Sociedad española de Arcillas. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, España, (2002), 173-176 páginas. Recuperado de: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/80941/1/Adsorci%C3%B3n-desorci%C3%B3n.pdf>.

Decreto Supremo N° 011-2017 (MINAM). *Aprueban Estándares de calidad Ambiental (ECA) para Suelo*. 2 de diciembre de 2017. Lima.

Díaz, I., Larqué, M., Alcántara, G., Carrillo, R. y Vásquez, A. (2001). *Alteración de algunos procesos fisiológicos en trigo por adición de plomo*. Revista Internacional de Contaminación de Ambiental. 17 (2), 79-90 páginas. Recuperado de <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/25527/24072>.

Fernández, M. (2003). Marcela. *Evaluación agronómica de sustancias húmicas, derivadas de humus de lombriz* (Tesis). Pontificia Universidad Católica de Chile. Recuperado de: <http://www.inventati.org/columnanegra/ecoagricultura/wordpress/wp-content/uploads/2010/10/Humus.pdf>.

Galán, E. y Romero, A. (2008). *Contaminación de Suelos por Metales Pesados*. Sevilla. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola.

Facultad de Química. Universidad de Sevilla. Recuperado de http://www.ehu.es/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf.

González, C. (2005). *Remediation of Soils Polluted with Heavy Metal Using Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Terra Latinoamericana. 23 (1). Universidad Autónoma Chapingo México. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/573/57323104.pdf>

Gutiérrez, J.; González, G., Segura, M., Sánchez, I., Orozco, J. y Fortis, M., (2015). *Efecto de ácidos húmicos de Leonardita en la estabilidad de agregados del suelo y raíces de melón en condiciones de invernadero*. Revista Internacional de Botánica Experimental, 84: 298-305. Recuperado de: <http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol84-2/Gutierrez.pdf>

Henk y Lock, K. (2000). *La Agricultura Urbana y Peri-urbana, Salud y Medio Ambiente Urbano*. Documento de discusión para la Conferencia Electrónica de FAO-ETC/RUAF sobre la Agricultura Urbana y Peri-urbana. Recuperado de: <http://www.fao.org/urbanag/Paper2-s.htm>.

Instituto Nacional de Ecología (s/f). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados por EPT*. Recuperado de: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/459/cap4.html>.

- INTAGRI (2020). *El Cobre en la Nutrición Vegetal*. Serie Nutrición Vegetal. Núm. 135. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 4 p. Recuperado de: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/el-cobre-en-la-nutricion-vegetal>.
- Janampa, N.; Quiñonez, Á.; Suárez, L., y Chalco, Y. (2014). *Variación de sustancias húmicas de abonos orgánicos en cultivos de papa y maíz*. Asociación Argentina Ciencia del Suelo. Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/cds/v32n1/v32n1a14.pdf>.
- Lax, A. (1968). Intercambio Iónico de los suelos. (Tesis Doctoral). Recuperado de <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/4847/1/EI%20intercambio%20i%C3%B3nico%20en%20suelos%20calizos.pdf>
- Leyva, M. (2017). *Capacidad secuestradora de metales pesados en el sedimento del humedal alto andino Collotacocha – Canrey – Recuay- Ancash, Periodo abril – setiembre 2015*. (Tesis de Maestría). UNASAM, Huaraz, Perú.
- López, R. (s/f). *Requisitos y normatividad de calidad del compost*. Ministerio de Ciencia y Tecnología. España. Recuperado de http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Cooperacion_Internacional_En_Materia_De_Medio_Ambiente/Iniciativas_Comunitarias/Programa_LIFE/LIFE_Medio_Ambiente/Proyectos_aprobados_enejecucion/pdf_compost/Aplicacion.pdf.

- Lloyd, J. y Lovley, D. (2001). *Microbial detoxification of metals and radionuclides*. Elsevier Science Ltd. Manshester. Department of Earth Sciences, the University of Manchester. Recuperado de: <http://www.dzumenvis.nic.in/Microbes%20and%20Radionuclide%20Pollution/pdf/Microbial%20detoxification%20of%20metals.pdf>.
- Lucena, J. (2009). *El empleo de complejantes y quelatos en la fertilización de micronutrientes*. Revista Ceres. 2009; 56 (4): 527-535. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=3052/305226808020>.
- Madera, C., Peña, E., Solarte, J. (2014). *Efecto de la concentración de metales pesados en la respuesta fisiológica y capacidad de acumulación de metales de tres especies vegetales tropicales empleadas en la fitorremediación de lixiviados provenientes de rellenos sanitarios*. Ingeniería y Competitividad, Volumen 16, No. 2, p. 179 – 188. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/inco/v16n2/v16n2a16.pdf>.
- Mendoza, R. (2012). *Efecto de la materia orgánica, arcilla y pH en la CIC de los suelos del sur-oeste del distrito el Mantaro, Jauja*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro. Perú. Recuperado de <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2083/Mendoza%20Solano.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Medina, K. y Montano, Y. (2014). *Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el Juncus arcticus Willd. y Cortaderia*

rudiuscula Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero alianza - Ancash 2013 (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Huaraz.

Menjivar, J., Diez, M., Aguilar, J., Peinado, F. y García, I. (2009). *Estudio de metales pesados y arsénico en los suelos de olivar de Sierra Magina, Jaén, España*. Recuperado de: http://www.google.com.pe/url?url=http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/12535/13132&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=7m1MVJm6O8eQgwTVxIHBYBQ&ved=0CCcQFjAE&usg=AFQjCNFz8KosAGu2-FB-115IZWDKgpVhQ

Miranda, D., et al. (2008). *Acumulación de metales pesados en suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con agua del río Bogotá*. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 2(2), página 180-191. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Gerhard_Fischer/publication/256475443_Acumulacion_de_metales_pesados_en_suelo_y_planta_de_cuatro_cultivos_hortícolas_regados_con_agua_del_rio_Bogota/links/00b7d522f5f926396d000000/Acumulacion-de-metales-pesados-en-suelo-y-planta-de-cuatro-cultivos-hortícolas-regados-con-agua-del-rio-Bogota.pdf

Moreno, M., et al. (2007). *Evaluación del impacto ambiental por plomo en suelo provocado por una empresa minera en la ciudad de Chihuahua*. Universidad Autónoma de Chihuahua. Recuperado de

http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/congresos/MORELOS/Extenso/CA/EC/CAC-26.pdf.

Munive, R. (2018). *Recuperación de suelos degradados por contaminación con metales pesados en el valle del Mantaro mediante compost de stevia y Fitorremediación*. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3770/munive-cerron-ruben-victor.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Nieto, S., Pacheco, L., Galán, C. y Páez, M. (2011). *Estudio de las Interacciones Ácido Húmico-Metales Pesados y Determinación de sus Constantes de Estabilidad por Electroforesis Capilar*. Información Tecnológica, 22, (3). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Recuperado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642011000300007&script=sci_arttext.

Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M. y Villar, S. (2007). *Técnicas de recuperación de suelos contaminados*. Universidad de Alcalá. Recuperado de: https://www.madrimasd.org/uploads/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/VT/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_contaminados.pdf

Pavel, C. (2008). *Implementación de una técnica para el aprovechamiento de los alcaloides del chocho y posterior complejión de metales pesados* (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2008. Riobamba – Ecuador. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/224/1/236T0008.pdf>

Prieto, J., González, C., Román, A., Prieto, F. (2019). *Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua*. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10, (1), pp. 29-44 páginas. Universidad Autónoma de Yucatán. México. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf>.

Peris, M. (2005). *Estudio de metales pesados en suelos bajo cultivos hortícolas de la provincia de Castellón*. Valencia: Universidad de Valencia. Recuperado de: <http://roderic.uv.es/handle/10550/15104>.

Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C. y Campos, A. (2006). *Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v5n1-2/a20v5n1-2.pdf>.

Reyes, M. y Barreto, L. (2011). *Efecto de la materia de la materia orgánica del suelo en la retención de contaminantes*. Universidad de La Salle. Colombia. Revista Épsilon N° 15, Vol.1. Recuperado de: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1149&context=e> p.

Reyes, A. (2018). *Contaminación por metales pesados de aguas y Suelos en la microcuenca Quilcayhuanca; su Relación con la litología y el contexto del cambio Climático; Huaraz Ancash Perú 2014-2015* (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo. Huaraz.

Reinoso, K. y Velasco, J. (2012). *Extracción de lignandos de carbón leonardítico por los métodos sosa- cloruro de sodio y run-cang sun y determinación de su actividad antioxidante*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/126/1/203642.pdf>.

Rodríguez, M.; Martínez, N.; Romero, M.; Del Río, L.; Sandalio, L. (2008). *Toxicidad del Cadmio en Plantas*. Estación Experimental del Zaidín. Granada, España. Recuperado de http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8734/1/ECO_17%283%29_14.pdf.

Ruiz, R., Vidal, L y Ruiz, J. (2015). *Epistemología y transdisciplinariedad en las estrategias sobre conservación del suelo y el agua en la formación integral del ingeniero agrónomo*. Universidad Veracruzana. Veracruz – México. Recuperado de: https://www.ecorfan.org/actas/educacion_ambiental_III/6%20Transdisciplinariedad%20y%20problemas%20complejos/12%20Transdisciplinariedad%20y%20problemas%20complejos%20264-276.pdf

Sánchez, A. (2002). *Mejora en la eficacia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias húmicas y aminoácidos* (Tesis doctoral). Universidad de Alicante, España. Recuperado de

<http://rua.ua.es/dspace/bitstream/.../1/S%C3%A1nchez%20S%C3%A1nchez,%20Antonio.pdf>.

Sacristán, D. (2015). *Evaluación de la toxicidad y de la bioacumulación del Cu en un cultivo acumulador (Lactuca sativa L.) y otro no acumulador (Solanum lycopersicum L.) en suelos agrícolas Mediterráneos representativos, como base para la propuesta de estrategias de gestión* (Tesis doctoral). Universidad de Valencia. España. Recuperado de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/141302/1/Tesis-Sacrist%C3%A1nMoraga.pdf>.

Servicio Agrícola Ganadero – SAG (s/f). *Metales pesados en el suelo*. Recuperado de: http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/5_metales_pesados_suelo.pdf.

Soares, F., et al. (s/f). *Mecanismos de hiperacumulación de metales pesados en plantas*. Universidad Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. Recuperado de: <http://www.fitorem.unah.edu.cu/Curso%20Recuperaci%C3%B3n%20de%20C3%A1reas%20agr%C3%ADcolas%20con%20MP.%20M%C3%A9todos%20de%20estudio/materiales/Materiales%20did%C3%A1cticos/Mecanismos%20acumulacion%20MP.pdf>.

Soriano, M. (2018). *Origen y causas de la Capacidad de Intercambio iónico en el suelo*. Universidad Politécnica de Valencia. España. Recuperado de

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/105109/Soriano%20-%20Origen%20y%20causas%20de%20la%20Capacidad%20de%20Intercambio%20i%C3%B3nico%20en%20el%20suelo.pdf?sequence=1>

Skodowski, P.; Maciejewska, A. y Kwiatkowska, J. (2006). *The effect of organic matter from Brown coal on bioavailability of Heavy metals in contaminated soils*. Department of Soil Science and soil conservation. Warsaw University of Technology. Warsaw. Poland. Recuperado de http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4020-4728-2_19#page-2.

Torres, G. (2015). *Reflexiones alrededor de la epistemología ambiental*. Revista de Estudios Sociales [En línea], 58; obtenido de: <http://journals.openedition.org/revestudsoc/313>.

Vargas, L.; Martínez, M.; Ortiz, R. y López, J. (2007). *Efecto de metales pesados sobre el crecimiento de la raíz primaria de Arabidopsis thaliana L.* Facultad de Biología, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH. Recuperado de http://www.cic.umich.mx/documento/ciencia_nicolaita/2007/49/CN49-101.pdf.

Varnero, M.; Rojas, C. y Orellana, R. (2007). *Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje*. Universidad de Chile, Facultad de

Ciencias Agronómicas. Recuperado de
<http://www.scielo.cl/pdf/rcsuelo/v7n1/art03.pdf>.

Vásquez, Y. (2015). *Caracterización morfológica y aptitud maltera de líneas de cebada (Hordeum vulgare L.) procedentes del CIMMYT México* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. Recuperado de:

<http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/979/VASQUEZ%20CASTRO%2C%20YOHANS%20JERSY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Vega, L. (2021). *Aplicación de métodos físico-químicos y biológicos en suelos contaminados con Cadmio y Plomo*. Huánuco, Perú. Obtenido de:
<https://www.unheval.edu.pe/portal/wp-content/uploads/2021/03/libro-Vega-Jara-L.-2021.pdf>.

Violente, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A., y Pigna, M. (s/f). *Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments*. Università di Napoli Federico II, Portici. Recuperado de
<http://www.scielo.cl/pdf/jssp/v10n3/art05.pdf>.

Volke, T., et al. (2004). *Primer informe el proyecto: Evaluación de tecnologías de remediación para Suelos contaminados con metales*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Méjico. Recuperado de:
http://www.inecc.gob.mx/descargas/dgcnica/metales_ei2004.pdf.

HUARAZ – PERÙ- 2016.

ANEXOS





Anexo 1 Foto preparando los extractos húmicos



Anexo 2 Foto de los extractos húmicos preparados, según fuente orgánica.



Anexo 3 Foto de la instalación de experimento: Aplicación de extractos húmicos.



Anexo 4 Foto que muestra los resultados por tratamiento, véase el tratamiento T5.



Anexo 5 Foto donde se observa la respuesta del cultivo bioindicador según tratamientos.



Anexo 6 Foto mostrando trabajo de gabinete, peso verde.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : ECONSULD S.R.L.
PROCEDENCIA : ANCASH
MUESTRA DE : HUMUS (POLVOS)
REFERENCIA : H.R. 51414
FACTURA : 29646
FECHA : 29/09/15

Nº LAB	CLAVES	Cu ppm	Zn ppm	Pb ppm	Cd ppm
624	M-5º/ RM01	26	134	773.75	0.46



Sady García Bendezu
Jefe de Laboratorio

Anexo 7 Informe de laboratorio, relave minero.



RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE CARACTERIZACIÓN

SOLICITA : Ing. Antonio VARGAS LINARES.
 MUESTRA : S^oRM
 UBICACIÓN : Cordillera Negra - Independencia - Huaraz - Ancash.

M. N°	Textura			Clase Textural	pH	M.O.%	Nr. %	P ppm	K ppm	C.E dS/m.
	Arena	Limo	Arcilla							
106-c	69	21	10	Franco arenoso	4,68	2,093	0,105	14	87	0,783

CACIONES CAMBIABLES

Muestra N°	Ca ⁺² me/100gr.	Mg ⁺² me/100gr.	K ⁺ me/100gr.	Na ⁺ me/100gr.	H+Al me/100gr.	CIC me/100gr.
106-c	6,59	0,83	0,16	0,04	0,59	8,21

ANIONES

Muestra N°	Ca CO ₃ %	SO ₄ ⁻² me/100gr.	Cl ⁻ me/100gr.	Suma me/100gr.
106-c	0,00	0,46	2,34	2,80

RECOMENDACIONES Y OBSERVACIONES ESPECIALES:

La muestra es de textura Franco arenoso, se caracteriza por tener una reacción fuertemente ácida, medianamente rica en materia orgánica y en nitrógeno, medianamente rico en fósforo y pobre en potasio, no tiene problemas de salinidad.

Huaraz, 17 de Junio del 2016



Anexo 8 Informe de laboratorio: Caracterización del sustrato en estudio.


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO


SOLICITANTE : ANTONIO VARGAS LINARES
 PROCEDENCIA : ANCASH/ HUARAZ/ INDEPENDENCIA/ SECTOR CORDILLERA NEGRA
 REFERENCIA : H.R. 55592
 FECHA : 09/09/2016

Número Muestra		Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
Lab	Claves	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
3370	S ^o RM	17.73	108.28	459.44	0.32	4.01




 Dr. Sady García Bendezu
 Jefe del Laboratorio

Anexo 9 Concentración de metales pesados de suelo contaminado deliberadamente.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES




INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN FOLIAR

SOLICITANTE : ANTONIO VARGAS LINARES
 PROCEDENCIA : ANCASH
 MUESTRA : TEJIDOS VEGETALES
 REFERENCIA : H.R. 55593
 FECHA : 14/09/2016


N. Lab	CLAVE DE CAMPO	Cu ppm	Zn ppm	Pb ppm	Cd ppm	Cr ppm
3869	MPT1	32	222	464.00	0.05	0.03
3870	MPT2	21	129	146.00	0.05	0.03
3871	MPT3	25	229	121.50	0.03	0.03
3872	MPT4	27	176	8.50	0.05	N.D.
3873	MPT5	21	313	145.95	0.03	0.03


N.D. : No detectable



Sady García Bandezú
 Jefe de Laboratorio

Anexo 10 Concentración de metales absorbidos por la planta de cebada por tratamiento.




UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
 FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : ANTONIO VARGAS LINARES
 PROCEDENCIA : ANCASH
 REFERENCIA : H.R. 55592
 FECHA : 09/09/2016

Número Muestra		Zn	Cu	Pb	Cd	Cr
Lab	Claves	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
3365	MST1	18.23	108.91	411.07	0.33	8.39
3366	MST2	18.30	108.16	383.05	0.34	9.21
3367	MST3	18.59	109.72	405.35	0.27	8.59
3368	MST4	17.65	109.83	397.08	0.33	9.09
3369	MST5	17.85	75.91	23.00	0.33	5.37


 Dr. Srd. García Bendejú
 J.A.S.P.A.F. Jefe del Laboratorio


Anexo 11 Concentración de metales pesados en suelo contaminado, después del tratamiento.

Anexo 12 Matriz de consistencia de la investigación.

Título: Efecto de tres extractos húmicos en la remoción del Zinc, Cobre, Plomo y Cadmio en suelos franco arenosos contaminados, Huaraz – 2016.

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Indicadores	Metodología.
Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Variable independiente		
¿Cuál será el efecto de los tres extractos húmicos en la remoción del Zinc, Cobre, Plomo y Cadmio en suelos franco arenosos contaminados, Huaraz?	Evaluar el efecto de tres extractos húmicos en la remoción del Cinc, Cobre, Plomo y Cadmio en suelos franco arenosos contaminados, utilizando como bioindicador al cultivo de cebada.	Los tres extractos húmicos tienen efectos diferentes en la remoción de Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en las variables biométricas del cultivo de cebada.	Extractos húmicos	X1: Extractos húmicos formulados. X2: Extractos húmicos de humus de lombriz. X3: Extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada.	Tipo de Investigación: Aplicada. Diseño Experimental: Diseño completa al azar (DCA). Nº de tratamientos: T ₁ : Extractos Húmicos formuladas al 5% de concentración (producto comercial). T ₂ : Extractos húmicos de humus de lombriz al 5% de concentración. T ₃ : Extractos húmicos de materia orgánica de bosques de quebrada al 5 % de concentración. Testigos: Testigo 1: Solo suelo agrícola. Testigo 2: Sustrato experimental sin aplicación de extractos húmicos (suelo deliberadamente contaminado). Nº de repeticiones: 3
Problemas específicos	Objetivos específicos.	Hipótesis específicos	Variable dependiente		
- ¿Cuál será el efecto de los extractos húmicos formulados (Humi riego - 15), en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada?	- Determinar el efecto de los extractos húmicos formulados (Humi riego - 15), en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada. II. - Determinar el efecto del extracto húmico del humus de lombriz en la remoción	- Los extractos húmicos formulados (Humi riego - 15), tiene efecto en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada. IV.	Remoción de metales pesados.	Indicadores biométricos: - Altura final de plantas, en cm. - Número de tallos (macollos). - Peso verde (g). - Peso seco (g) - Peso de raíces - Índice de toxicidad. - Factor de bioacumulación (FB).	

<p>- ¿Cuál será el efecto del extracto húmico del humus de lombriz en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada? I.</p> <p>- ¿Cuál será el efecto del extracto húmico de materia orgánica de bosques de quebrada en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada?.</p>	<p>del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada. III.</p> <p>- Determinar el efecto del extracto húmico de materia orgánica de bosques de quebrada en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada.</p>	<p>- El extracto húmico del humus de lombriz tiene efecto en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada. V.</p> <p>- El extracto húmico de materia orgánica de bosques de quebrada tiene efecto en la remoción del Zn, Cu, Pb y Cd en suelos franco arenosos contaminados, expresados en los parámetros biométricos del cultivo de cebada</p>			<p>Población:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Suelos agrícolas franco arenoso del ámbito del distrito de Huaraz. - Extractos húmicos de tres fuentes orgánicas. <p>Muestra:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Muestra de suelo agrícola franco arenoso usado en el experimento (52.5 Kg). - Muestras de extractos húmicos obtenidos de tres fuentes orgánicas. <ul style="list-style-type: none"> - Extracto húmico comercial (1 litro). - Extracto de Humus de lombriz (5.5 litros) - Extracto de materia orgánica de bosques de quebrada: (5.5 litros) <p>Técnicas e instrumento de medición de variable dependiente: Observación directa. Regla graduada, balanza de precisión y estufa.</p>
---	---	---	--	--	---