

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOINDICADORA DE LA CONTAMINACIÓN
DE SUELOS POR OXIDO DE MERCURIO EN TRES ESPECIES DE PLANTAS
ORNAMENTALES.**

EDNA ZORAIDA DOMÍNGUEZ BUITRAGO

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
VILLAVICENCIO**

2018

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOINDICADORA DE LA CONTAMINACIÓN
DE SUELOS POR OXIDO DE MERCURIO EN TRES ESPECIES DE PLANTAS
ORNAMENTALES.**

EDNA ZORAIDA DOMÍNGUEZ BUITRAGO

Trabajo de grado para optar el título de Ingeniera Ambiental

Director

CESAR AUGUSTO RIVEROS ROMERO

Ingeniero Agrónomo cMSc

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

VILLAVICENCIO

2018

P. FRAY JUAN UBALDO LÓPEZ SALAMNCA O.P

Rector General

P. MAURICIO ANTONIO CORTÉS GALLEGO O.P

Vicerrector Académico General

P. FRAY JOSÉ ARTURO RESTREPO RESTREPO O.P

Rector Sede Villavicencio

P. FARY FERNANDO CAJICÁ GAMBOA O.P

Vicerrector Académico Sede Villavicencio

P. CLAUDIA SOLANO HUERTAS

Secretaria de División Sede Villavicencio

P. YESICA NATALIA MOSQUERA BELTRAN O.P

Decana de la Facultad de Ingeniería Ambiental

Nota De Aceptación

Yesica Natalia Beltrán Mosquera
Decana de la Facultad de Ingeniería Ambiental

Cesar Augusto Riveros Romero
Director Trabajo de Grado

Yulieth Catherine Reyes Roa
Jurado

Mónica Patricia Díaz Pita
Jurado

Villavicencio, 10 Mayo 2018

A mis padres y hermano por ser el pilar fundamental
en todo lo que soy, por su apoyo y amor incondicional

Agradecimientos

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a Dios quien en todo momento está conmigo y quien es el guía del destino de mi vida.

Así mismo agradezco a mi alma mater la Universidad Santo Tomás, la cual me brindó la oportunidad de formarme como profesional en el campo de la ingeniería ambiental y el apoyo en el desarrollo y cumplimiento de mi proyecto de grado.

De igual manera por su apoyo, orientación y atención a mis consultas sobre el desarrollo del proyecto, como director de grado agradezco al Ingeniero Cesar Riveros de la Universidad Santo Tomás.

Por ultimo pero no menos importante, gracias a mi familia, padres, hermano y amigos; quienes me brindaron su apoyo vital e incondicional a lo largo del desarrollo total de mi tesis.

Contenido

	Pág.
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
CAPITULO I	15
Planteamiento del Problema	15
Descripción del problema	15
Formulación Entorno al Problema	16
Objetivos	17
Objetivo General	17
Objetivos Específicos.....	17
Justificación	18
Alcance del Proyecto	20
CAPITULO II	21
Antecedentes.....	21
CAPITULO III.....	27
Marco de Referencia	27
Marco Teórico.....	27
El recurso Suelo y su Contaminación	27
Contaminación por Metales pesados	27
Especiación del Mercurio (Hg) en el ambiente.....	28
Biodisponibilidad de metales pesados en las Plantas	29
<i>Heliconia psittacorum</i> L.F	30
<i>Colocasia esculenta</i> L.S.....	32
<i>Sinapis alba</i> L.	33
Bioensayos Toxicológicos en suelo	34
Marco Conceptual.....	37

Marco Legal	38
CAPITULO IV	43
Metodología	43
Área de Estudio.....	44
Tamaño de la Muestra.....	44
Fases Metodológicas de Investigación.....	45
Fase 1. Obtención, preparación y adaptación de las muestras de suelo.....	45
Fase 2. Trasplante y adaptabilidad de las especies	46
Fase 3. Estudio del suelo testigo previo a los bioensayos.....	46
Fase 4. Desarrollo de los bioensayos.	46
Fase 5. Medición de los parámetros físico-químicos edafológicos, y el porcentaje de área foliar afectada.....	47
Fase 6. Recopilación y análisis de los resultados obtenidos.	50
CAPITULO V	51
Resultados y análisis de resultados	51
Resultados Edafológicos preliminares	51
Resultados Edafológicos y Foliares posterior a los Bioensayos	56
Análisis estadístico del daño foliar para las especies en estudio	64
Análisis de comparación entre bloques de las especies evaluadas	65
Análisis de bloques completos al azar para la especie <i>Colocasia esculenta</i>	66
Análisis de bloques completos al azar para la especie <i>Heliconia psittacorum</i>	67
Análisis estadístico de los parámetros edafológicos	69
Análisis T-student de muestras relacionadas para la especie <i>Colocasia esculenta</i>	69
Análisis T-student de muestras relacionadas para la especie <i>Heliconia psittacorum</i>	71
DISCUSIÓN	73
CONCLUSIONES	75
RECOMENDACIONES	76
BIBLIOGRAFÍA	77

Lista de Tablas

<i>Tabla 1.</i> Marco legal normativo nacional colombiano para el factor suelo.....	39
<i>Tabla 2.</i> Marco legal normativo Nacional Colombiano para plaguicidas, fungicidas y pesticidas	40
<i>Tabla 3.</i> Marco Legal Normativo Colombiano para el Mercurio	41
<i>Tabla 4.</i> Concentración máxima permitida de metales pesados en suelos agrícolas.....	41
<i>Tabla 5.</i> Concentración crítica de metales pesados en suelos, con efectos tóxicos en la salud humana.....	42
<i>Tabla 6.</i> Concentraciones de referencia totales de la norma oficial mexicana.....	42
<i>Tabla 7.</i> Mediación de los parámetros físico-químicos del suelo.....	47
<i>Tabla 8.</i> Análisis edafológico – Prueba de Textura y Color.....	51
<i>Tabla 9.</i> Prueba de Densidad real	53
<i>Tabla 10.</i> Resultados prueba de densidad aparente	53
<i>Tabla 11.</i> Conglomerado de los resultados del análisis preliminar del suelo.....	56
<i>Tabla 12.</i> Resultados Edafológicos posterior a los Bioensayos	58
<i>Tabla 13.</i> Coeficiente de correlación de Spearman entre bloques <i>H. psittacorum</i> Vs <i>C. esculenta</i>	65
<i>Tabla 14.</i> Coeficiente de correlación de Spearman especie <i>Colocasia esculenta</i>	67
<i>Tabla 15.</i> Coeficiente de correlación de Spearman especie <i>Heliconia psittacorum</i>	68
<i>Tabla 16.</i> Estadísticos de muestras relacionadas para la especie <i>Colocasia esculenta</i>	69
<i>Tabla 17.</i> Resultados prueba de medias relacionadas para la especie <i>Colocasia esculenta</i>	69
<i>Tabla 18.</i> Estadísticos de muestras relacionadas para la especie <i>Colocasia esculenta</i>	71
<i>Tabla 19.</i> Resultados prueba de medias relacionadas para la especie <i>Heliconia psittacorum</i>	71

Lista de Figuras

Figura 1. <i>Heliconia psittacorum</i>	31
Figura 2. Raíz Pivotante o Axonomorfas	32
Figura 3. <i>Colocasia esculenta</i>	32
Figura 4. Raíces Tuberosas	33
Figura 5. <i>Sinapis alba</i>	34
Figura 6. Estructura Física del Invernadero	44
Figura 7. Croquis de distribución espacial de las especies de estudio.	45
Figura 8. Color identificado en el suelo	52
Figura 9. Semillero de prueba de germinación en la especie <i>Sinapis alba</i>	56
Figura 10. Plántulas de <i>Sinapis alba</i> previas a presentar mortandad.	57
Figura 11. Daño radicular en las especies de estudio.....	60
Figura 12. Respuesta cualitativa de las plantas en función de la concentración y tiempo de exposición al metal	61
Figura 13. Cambio en la clorofila - Deficiencia de Nitrógeno en las hojas de <i>H. psittacorum</i> ...	62
Figura 14. Marchitamiento y cambio de color del borde hacia en centro de las hojas	62
Figura 15. Desarrollo de flor en la especie <i>Heliconia psittacorum</i>	63
Figura 16. Crecimiento débil de las plántulas de <i>H. Psittacorum</i> por deficiencia de Fosforo (P)63	
Figura 17. Desarrollo débil y lento en los individuos de ambas especies	64

Tabla de Apéndices

<i>Apéndice. 1</i> Ubicación geoespacial del lugar de estudio (Invernadero)	80
<i>Apéndice 2.</i> Daño foliar por Oxido de Mercurio en las especies de estudio posterior a los Bioensayos	81
<i>Apéndice 3.</i> Daño foliar por Oxido de Mercurio en las especies de estudio previo a los Bioensayos	83

Resumen

Esta investigación evaluó el efecto de cinco diferentes concentraciones de Oxido de Mercurio HgO (0,6 - 1,5 - 2,5 - 5,0 y 10 mg/L) en tres especies vegetales ornamentales *Heliconia psittacorum* L.F, *Colocasia esculenta* L.S y *Sinapis alba* L, como bioindicadores de la contaminación de suelos por Mercurio (Hg), mediante la valoración del área foliar afectada determinando el grado susceptibilidad a la contaminación, y si las especies se ajustan como bioindicadoras de HgO; y la variación en las propiedades físico químicas del suelo (pH, y contenido de N, P, K).

Se tuvo un diseño experimental de bloques completos al azar con un tamaño muestral de 90 individuos, es decir seis (6) individuos para cada especie en relación a cada dosis; adicionalmente dos (2) individuo testigo. En torno al análisis estadístico aplicado a los datos, se empleó el *Coefficiente de Correlación Spearman* en el cual se evaluaron las correlaciones entre el daño foliar y los diferentes tratamientos aplicados; y un análisis de comparación de medias a través de la prueba *T-student* para muestras relacionadas en la cual se evaluaron las variaciones entre los niveles de Nitrógeno, Fosforo, Potasio y pH en el suelo pre-tratamiento y post-tratamiento, haciendo uso del software IBM SPSS Statistics.

El comportamiento metabólico y de foliación en las especies vegetales evaluadas *H. psittacorum* y *C. esculenta* se vieron afectados por la presencia del contaminante, presentando disminución de crecimiento radicular, disminución en la capacidad de adsorción de nutrientes por la planta, índice de crecimiento menor, cambios en la clorofila del haz de sus hojas y debilitamiento en sus tallos. Y en cuanto a las condiciones edafológicas estas se vieron afectadas directamente frente a la presencia del Óxido de mercurio, disminuyendo los niveles disponibles de nutrientes esenciales para los organismos como el Nitrógeno y Potasio; los cuales disminuyeron hasta en un 25% y 50% respectivamente, frente a la variabilidad de las concentraciones de Oxido de Mercurio.

Palabras Claves: Bioensayo, Bioindicador, Oxido de Mercurio, Suelo.

Abstract

This research evaluated the effect of five different concentrations of mercury oxide HgO (0.6 - 1.5 - 2.5 - 5.0 and 10 mg/L) in three ornamental plant species *Heliconia psittacorum*, *Colocasia esculenta* and *Sinapis alba*, as bioindicators of soil contamination by mercury (Hg), through the valuation of leaf area affected by determining the degree susceptibility to pollution, and if species are adjusted as bioindicators of Juárez; and the variation in the chemical and physical properties of the soil (pH, and content of N, P, K).

The experimental design was a randomized complete blocks with a sample size of 90 individuals, that is to say six (6) individuals for each species in relation to each dose; additionally, two (2) individual witness. In the statistical analysis applied to the data, the Spearman correlation coefficient in the evaluation of the correlations between the foliar damage and the different treatments applied; and an analysis of comparison of means through the T-Student test for related samples in which assessed the variations between the levels of nitrogen, phosphorus, potassium and pH in the soil pre-treatment and post-treatment, making use of the IBM SPSS software Statistics.

The metabolic behavior and of leaf growth in plant species evaluated *H. psittacorum* and *C. esculenta* is affected by the presence of the contaminant, presenting decrease of root growth, decrease in the capacity of adsorption of nutrients by the plant, rate of growth, changes in the chlorophyll of their leaves and weakness in their stems. And with regard to the soil condition these were affected directly in front of the presence of mercury oxide, decreasing the available levels of essential nutrients for agencies such as nitrogen and potassium, which declined by up to 25% in A and 50%, respectively, compared to the variability of concentrations of mercury.

Key Words: Bioassay, Bioindicator, Mercury Oxide, Soil.

Introducción

En Colombia los crecientes precios del petróleo, carbón y oro han permitido que la economía gire en torno a la exportación de estos productos en los últimos años, siendo el oro el segundo mineral de mayor producción anual con 47,8 toneladas exportadas. Según el censo minero llevado a cabo por el Ministerio de Minas y Energía para el periodo 2010-2011 a nivel nacional 12 Departamentos desarrollan minería aurífera, entre los cuales se encuentra Choco, Atlántico, Nariño, Cundinamarca, entre otros; del material explotado por estas zonas el 31% es material metálico, del cual el 86% no tiene un título minero legal, siendo el oro el mineral metálico que más extracción ilegal presenta con un 90% (Ministerio de Minas y Energía República de Colombia, 2012).

A causa de ese crecimiento minero aurífero ilegal en Colombia, la mayor problemática ambiental es el cambio de uso y manejo del suelo, y la contaminación por metales pesados como el mercurio empleado en procesos de amalgamación para obtención del oro; siendo el suelo el recurso más afectado por la residualidad de este elemento que causa variaciones fisicoquímicas y biológicas; modificando las concentraciones en las que estos se encuentran en el suelo, pudiendo causar daños al entorno o al organismo receptor (Azpilicueta, Pena, & Gallego, 2010). Adicional a esto el mercurio se encuentra como Oxido de Mercurio en agroquímicos y fungicidas usados en la agricultura, llegando a contaminar ecosistemas acuáticos por procesos de escorrentía o infiltración; haciendo necesario el desarrollo de técnicas de identificación y recuperación de suelos.

Por esto la presente investigación de tipo experimental con enfoque cuantitativo surgió como iniciativa para dar respuesta a la problemática asociada a la carencia de información frente a la recuperación de suelos contaminados por mercurio. En atención a esto, desarrollado en seis fases, el presente proyecto se basó en la evaluación de tres especies vegetales con potencial biorremediador debido a su capacidad de tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales pesados; como la *Heliconia psittacorum* (Heliconia), *Colocasia esculenta* (Malanga) y *Sinapis alba* (mostaza amarilla), bioindicadoras de la contaminación de suelos por mercurio (Hg). Esta evaluación de especies se desarrolló a partir de bioensayos a diferentes niveles de

Oxido de Mercurio, y a partir de la evaluación del área foliar y en los parámetros físico químicos del suelo en función de estos se determinó el grado susceptibilidad a la contaminación por Oxido de Mercurio. Considerando esto se logró identificar la especie vegetal que presento mayor afinidad como bioindicadora de los suelos contaminados, se generó una base de datos cualitativa y cuantitativa del daño foliar en cada especie, y finalmente se da continuidad para que este proyecto sirva como línea de investigación para futuros proyectos.

CAPITULO I

Planteamiento del Problema

Descripción del problema

El mercurio (Hg) es un metal que presenta efectos nocivos sobre el medio ambiente y los seres vivos, debido a su capacidad de bioacumularse afectando la integridad de los ecosistemas y la salud del hombre (Olivero & Restrepo, 2002). En la presente investigación no se empleara Mercurio elemental; se utilizara Oxido de Mercurio (HgO), el cual es un compuesto inorgánico del Mercurio, y se encuentra presente en los pesticidas como insumo activo y en la atmosfera en su forma inorgánica oxidada Oxido de mercurio; el cual retorna al suelo y cuerpos hídricos por precipitación (ciclo del agua) causando una biotransformación de este a metilmercurio causando daños en los ecosistemas, fauna y flora (Villarejo, 2014).

En el recurso suelo el mercurio genera variaciones fisicoquímicas y biológicas modificando su equilibrio biogeoquímico y su capacidad de amortiguación frente a los contaminantes, haciéndolo más vulnerable a futuros impactos ambientales (Crosara, n.d.). En suelos agrícolas esta capacidad de amortiguación se ha definido como “Capacidad de Carga para Metales Pesados” (Galán Huertos & Romero Baena, 2008), que se encuentra influenciada por las propiedades y condiciones fisicoquímicas del suelo como el pH y potencial redox (Eh), mientras que los constituyentes orgánicos e inorgánicos del suelo son los que en gran medida condicionan los mecanismos de retención de metales por adsorción, complejación y precipitación fundamentalmente (Bernad, Sanz, Valiño, & Fernández, 2006).

En Colombia la contaminación a causa de este metal ha crecido proporcionalmente al aumento de minería aurífera artesanal que usa el Mercurio en procesos de amalgamación, y por diferencia de puntos de ebullición se logra la separación de los elementos, por lo que se genera inicialmente una contaminación atmosférica, que posteriormente se bioaumenta y biomagnifica en la cadena trófica (Olivero & Restrepo, 2002)

Adicionalmente, este elemento se encuentra como Oxido de Mercurio en agroquímicos como fungicidas e insecticidas, incrementando los niveles en el suelo debido a la residualidad que tiene este metal, a su vez llega a contaminar ecosistemas acuáticos por procesos de escorrentía, infiltración y lixiviación (Galán Huertos & Romero Baena, 2008).

De acuerdo a esto; en el departamento del Meta, la contaminación por metales pesados en especial por Mercurio o derivados como el Óxido de mercurio se presenta principalmente en los municipios con actividad agrícola intensiva, debido al uso de plaguicidas; sumado a la falta de rotación y descanso del terreno, presentando modificaciones en las condiciones edáficas de estos (Mahecha, Trujillo, & Torres, 2015).

Debido a estas afectaciones ambientales se emplean formas de recuperación de la condiciones del suelo a través de la fitorremediación, método de biorremediación de suelos el cual mediante plantas con características de adsorción de metales pesados son conocidas como hiperacumuladoras y en su sistema retienen el contaminante; esta biodisponibilidad o adsorción se puede ver reflejada en las especies vegetales en su comportamiento, es decir en su crecimiento, desarrollo reproductivo, sistema radicular, en su follaje o en sus tallos.

Formulación Entorno al Problema

Con base en lo anterior, en el presente proyecto se realizó una investigación que buscaba realizar una caracterización a partir de especies vegetales ornamentales como bioindicadoras de la contaminación por Oxido de Mercurio (HgO), llegando a identificar la especie que presenta mejor afinidad como bioindicadora y por ende biorremediadora de suelos, por esto se planteó la hipótesis ¿Cómo varía el crecimiento y porcentaje de área foliar afectada, en 3 especies de plantas ornamentales con potencial bioindicador (Heliconia, mostaza amarilla y malanga) y las propiedades físico-químicas del suelo (pH y contenido de fosforo, potasio y nitrógeno), como efecto a diferentes concentraciones (control, T1, T2, T3, T4, T5) de Oxido de Mercurio con un seguimiento en el tiempo; que será llevado a cabo en un invernadero ubicado en predios de la finca Danilo en el área urbana de la ciudad de Villavicencio?

Objetivos

Objetivo General

Determinar la capacidad bioindicadora de tres especies de plantas ornamentales (*Sinapis alba*, *Heliconia psittacorum* y *Colocasia esculenta*) en suelos contaminados con Oxido de Mercurio, con base en las propiedades físico-químicas del suelo, el crecimiento y área foliar de las plantas afectada, en predios de la finca Danilo ubicada en el área urbana de la ciudad de Villavicencio.

Objetivos Específicos

- Determinar las condiciones físico-químicas del suelo antes y después de llevar acabo la contaminación artificial con Oxido de Mercurio.
- Evaluar el crecimiento y porcentaje de daño en el área foliar de tres especies de plantas afectadas por la contaminación de suelos con diferentes concentraciones de Oxido de mercurio.
- Determinar la especie vegetal que presenta mayor afinidad como bioindicadora de los suelos contaminados por Oxido de mercurio.

Justificación

El Mercurio es un compuesto químico utilizado ampliamente en diversas actividades económicas productivas; actualmente es utilizado en agricultura y la industria; principalmente en la minería, la siderurgia, industria de papel, eléctrica, de pinturas y la producción de cloro. La peligrosidad de este compuesto radica en su elevada toxicidad, bioacumulación y biomagnificación en los seres vivos (fauna y flora) a lo largo de la red trófica (Yarto, Gavilán, & Castro, 2004).

Los metales pesados como el Mercurio, y en general los elementos traza, están presentes en bajas concentraciones (mg/kg) en la naturaleza, los suelos y las plantas, bajo diferentes modalidades, ya sea en forma metálica, de vapor o gas, combinado con otros elementos formando sales inorgánicas o compuestos orgánicos (Yarto et al., 2004). Estos elementos son componentes naturales de la corteza terrestre y no pueden ser degradados o destruidos; y dependiendo las concentraciones en que se encuentren estos, pueden causar diversos daños al entorno o al organismo receptor (Galán Huertos & Romero Baena, 2008).

Debido a los peligros críticos para la salud humana y el ambiente que se relacionan con los metales pesados como el mercurio; científicos han estudiado sus efectos, haciendo énfasis en técnicas de recuperación de suelos como la biorremediación y fitorremediación (Azevedo & Rodriguez, 2012).

En vista de esto existen gran variedad de técnicas o modelos mediante los cuales se estudia y analiza la toxicidad de los metales en el suelo; uno de estos modelos es el uso de plantas como bioindicadoras de la contaminación por ciertos metales en el suelo, dependiendo la especie y las propiedades de translocación o secuestro de metal que estas tengan, haciendo de estos, unos rasgos únicos que las convierten en individuos de estudio para bioensayos (Azevedo & Rodriguez, 2012)

En primer lugar, el carácter de productor primario de las plantas en la cadena alimenticia, es de vital importancia para comprender el efecto tóxico del mercurio o compuestos de este en las plantas, e igualmente como las biomagnificaciones de estos tóxicos afectan a los individuos

consumidores. Además de esto algunas especies desarrollan mecanismos de aceptación a la exposición de tóxicos; algunas pueden regular la cantidad de contaminantes que retiene, o tolerar el efecto dañino; estas plantas son conocidas como hiperacumuladoras, que son aquellas especies que pueden sobrevivir a pesar de concentrar, en la parte aérea, (foliar o radicular) contaminantes en altas dosis (Azevedo & Rodriguez, 2012)

Estas técnicas de recuperación de suelos afectados por la contaminación de metales pesados, es poco conocida y aplicada a nivel nacional en Colombia, y aún más en el Departamento del Meta.

Por consiguiente partiendo de la necesidad de aplicar nuevas técnicas que favorezcan la remediación de ambientes contaminados surgió la iniciativa de plantear un proyecto de investigación que permitiera dar respuesta a la problemática asociada a la carencia de información referente a zonas contaminadas con mercurio debido a la minería artesanal y al uso de plaguicidas con Oxido de Mercurio como ingrediente activo, por medio del análisis comparativo entre especies vegetales ornamentales como la Mostaza Amarilla (*Sinapis alba*), la Heliconia (*Heliconia psittacorum*) y la Malanga (*Colocasia esculenta*) cuyos requerimientos nutricionales, climáticos, translocación y retención del mercurio, permiten su aplicación como especie acumuladora y por ende indicadora de contaminación; con el fin de determinar cuál de estas presenta mayor eficiencia como indicadora de este metal presente en el suelo (Delgadillo, González, Prieto, Villagómez, & Acevedo, 2011). Estas especies fueron seleccionadas para esta investigación debido a su uso como agentes bioindicadores de fitorremediación, indicando así la presencia de metales pesados en las zonas de estudio; debido a esta propiedad exclusiva de ellas de captar y extraer el metal del suelo a través de sus raíces concentrándolo en sus tejidos (Salamanca, Parra, Sanchez, & Vásquez, 2013).

El presente proyecto surgió de una línea de investigación diferente a otros estudios similares en los cuales se usan especies vegetales alimenticios como la lechuga, lenteja, garbanzo para ser individuos en bioensayos; por esto la presente investigación se aplica el uso de especies vegetales ornamentales no alimenticias (Millán et al., 2007); garantizando así una seguridad alimentaria al no emplear posibles alimentos de la dieta humana.

Alcance del Proyecto

El presente proyecto tuvo como alcance, determinar la capacidad bioindicadora de tres especies vegetales ornamentales (*Sinapis alba*, *Heliconia psittacorum* y *Colocasia esculenta*) en suelos contaminados con mercurio, con base en las propiedades fisicoquímicas del suelo, el crecimiento y área foliar de las plantas afectadas. Para esto, se llevaron a cabo bioensayos por medio del riego, en un tiempo de exposición de dos meses, en los cuales se midió conjuntamente los parámetros fisicoquímicos del suelo y el porcentaje de área foliar afectada en las plántulas.

Este estudio de análisis cuantitativo (pruebas de laboratorio y pruebas piloto de cultivo) se desarrolló a través de un invernadero situado en la finca Danilo ubicada en el área urbana de la ciudad de Villavicencio (Anexo 1); dando las mismas condiciones ambientales climáticas a todos los individuos a lo largo del estudio, disminuyendo el sesgo de error. Al finalizar el tiempo de exposición se tomaron dos meses para la recopilación, análisis y elaboración del informe final.

CAPITULO II

Antecedentes

La contaminación del suelo por metales pesados en especial por el mercurio como elemento, materia prima o insumo crucial en muchas actividades antrópicas, es hoy en día una de las problemáticas ambientales más importantes para la sociedad y la administración de cualquier ciudad o país en el mundo. Dicha contaminación del suelo se manifiesta cuando hay presencia de concentraciones nocivas causando degradación y pérdida productiva de este (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). Frente a esta problemática se han hecho estudios a nivel mundial, que abarcan diferentes áreas en busca de una solución poniendo en práctica diversas técnicas de biorremediación de suelos, como la fitoextracción, fitoestabilización, fitoinmovilización, fitovolatilización y fitodegradación.

Tal es el caso del estudio de rehabilitación de suelos contaminados por mercurio (Hg) desarrollado en la Comarca de Almadén España, un parque minero con la concentración natural más grande de mercurio (300 Km²) que ha sido marcada por actividad minera de extracción desde hace más de 2000 años; sin embargo actualmente se encuentran cerradas las excavaciones, debido a la necesidad de un cambio de uso del suelo. Para esto primero se realizó un estudio integral de las posibilidades de fitorremediación del Hg, mediante una caracterización edafológica y botánica de la zona, y una selección de especies silvestres con resistencia al mercurio. Realizando en paralelo ensayos en parcelas experimentales en condiciones controladas utilizando especies agrícolas (lenteja, berenjena, garbanzo, altramuza), evaluando el factor de transferencia de Hg. Esto permitió seleccionar dos estrategias de fitorrecuperación aplicables y viables para los suelos afectados por la actividad minera y lograr la inmovilización del mercurio por plantas silvestres, como lo son la fitoestabilización y revegetalización de las zonas más degradadas de Almadén (Millán et al., 2007).

Así mismo estas investigaciones no solo se basan en el uso de especies agrícolas alimentarias para la biorremediación en suelo, o como bioindicadoras de contaminación al realizar el estudio integral edafológico. De acuerdo con esto se han desarrollado estudios

prácticos en los cuales se usan líquenes como bioindicadores de la contaminación medioambiental, de los cambios climáticos y de la estabilización del suelo.

Estos estudios han sido desarrollados principalmente en Europa, Norteamérica, Indonesia, Malasia y Tailandia, dando como resultado una respuesta en el área foliar de las especies de estudio (Lobariaceae. spp, Thelotremataceaea. spp) frente las perturbaciones en los bosques templados y tropicales por contaminación con metales pesados y radiactivos. De igual manera en la región de Hong Kong de la república popular de China se utilizaron estas especies vegetales (líquenes) como bioindicadoras de contaminación atmosférica y otros tipos de perturbaciones medio ambientales; refiriéndose principalmente, a la deforestación, frente a la que estas especies son muy sensibles, y su desaparición pone en peligro la biodiversidad liquénica en Hong Kong (Hawksworth, Iturriaga, & Crespo, 2005).

Un estudio similar de microrremediación con hongos y líquenes como bioindicadores se desarrolló en la Ciudad de México D.F y Guadalajara a través de un estado del arte para evaluar el grado de disturbio o salud de un bosque, la calidad del suelo, o la presencia de contaminantes ambientales por medio del uso de líquenes o hongos debido a la sensibilidad que tienen a los contaminantes atmosféricos y condiciones de calidad edafológicas. Algunas de las especies de hongos revisadas que presentaron mejor bio-indicación de contaminación por mercurio fueron *Agaricus arvensis*, *Boletus pinophilus*, *Calocybe gambosa*, *Lepista nuda*; dada la habilidad de acumular en cantidades más altas que las plantas debido al contacto directo y extenso de las hifas con el sustrato donde crecen así como a su capacidad osmotrófica. Sin embargo es posible que no sean indicadores confiables de la contaminación por mercurio debido al tráfico vehicular, ya que este se disemina en forma efectiva a través del aire (González, Vallarino, Pérez & Low, 2014).

Por otra parte, a nivel de Latinoamérica los estudios realizados frente a la contaminación por metales pesados en el suelo giran en torno a las actividades antrópicas como la minería aurífera, causante del fenómeno de biomagnificación de contaminantes debido a sus procesos de obtención del oro, específicamente el mercurio. Tal es el caso del estado de Zacatecas México, donde los residuos mineros generados entre 1570-1820 depositados en sus planicies, han provocado un aumento en la preocupación pública sobre la estabilidad de estos. Para determinar

el posible riesgo a la salud y al ambiente, se cuantificó la cantidad de mercurio total en las muestras de suelo agrícola; y se realizó una extracción química secuencial de mercurio para aquellas muestras que presentaron concentraciones superiores al límite recomendado por las normas internacionales para suelos. Logrando así, identificar que la mayor proporción del mercurio en los residuos de minería se encuentra en especies químicas estables (elemental, fuertemente enlazado, sulfuro de mercurio y residual), con bajo grado de disponibilidad, y de igual manera concentraciones inferiores a los límites establecidos (Olmos et al., 2012).

De igual forma en Pueblo Libre Perú, se llevan a cabo investigaciones para la evaluación del riesgo ambiental en zonas contaminadas por metales pesados, empleando organismos biológicos estandarizados, con el fin de evaluar el efecto fitotóxico de metales pesados como Cr^{6+} , Hg^{2+} y Pb^{2+} en forma de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_{207}$), cloruro de mercurio (Cl_2Hg) y acetato de plomo ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$), respectivamente, provenientes de la minería; sobre el crecimiento de ciertas especies de plantas vasculares alimentarias (cebolla, arroz, betarraga y rabanito). Identificando así a la especie betarraga (*Beta vulgaris* L), como bioindicador ecotoxicológico en suelos mineros. En contraste, las especies cebolla (*Allium cepa* L) y rabanito (*Raphanus sativus* L), siendo más tolerables a los metales pesados, permiten su uso para la revegetación en suelos afectados por la minería (Iannacone & Alvareño, 2005).

Así mismo a nivel nacional en Colombia se han desarrollado estudios enfocados en zonas donde la minería no es su principal actividad económica pero si de gran influencia frente a los problemas ambientales. Tal es el caso del municipio de Barranco de Loba al sur de Bolívar; donde la contaminación por mercurio (Hg) tiene niveles altos y se busca ser remediada mediante la utilización de plantas hiperacumuladoras como el guarumo (*Cecropia peltata*), sin presentar efectos tóxicos considerables. Se determinó la influencia del grado de contaminación, y tiempo de crecimiento del guarumo, sobre la tasa de remoción de mercurio en el suelo. Para ello se tomó una población de 80 plántulas inicialmente sembradas en suelo libre de mercurio y posteriormente sembradas en suelo contaminado. Finalmente el análisis de mercurio total se realizó empleando espectroscopia de absorción atómica mediante la técnica de vapor frío. Esta especie presenta mayor acumulación en raíces y hojas; esto debido a que las raíces están expuestas directamente al mercurio, y las hojas por ser su ultimo receptor; llegando a absorber un

33% del mercurio presente en el suelo, mostrando una significativa capacidad para ser empleada en fitorremediación de suelos contaminados (Vidal, Marrugo, Jaramillo, & Perez, 2010).

Un caso similar se presentó en el municipio de Segovia en el departamento Antioquia, donde se busca a través del uso de plántulas arbustivas de mostaza negra (*Brassica nigra*), y arbóreas como el guarumo (*Cecropia peltata*), la biorremediación de suelos contaminados con Cianuro y Mercurio en procesos de minería aurífera, y una disposición final adecuada para las especies al finalizar el estudio. Para este estudio se empleó una metodología con base en dos técnicas de exposición de los contaminantes, una se basó en realizar dos ensayos donde las semillas de mostaza negra se pusieron a germinar en dos sistemas, uno de ellos en suelo contaminado con diferentes concentraciones del metal pesado y se determinó el porcentaje de germinación. La otra fue en un medio libre de contaminantes y luego de la germinación de las semillas, fueron trasplantadas a los suelos contaminados con diferentes concentraciones, y se denominó trasplante. A partir de esto se concluyó, que las concentraciones de mercurio y cianuro, afectan notoriamente la germinación de las semillas de las plántulas en un 50% en la técnica de germinación, sin embargo en la técnica de trasplante no se ve afectado el desarrollo de las plántulas. Esta especie presentó un porcentaje de remoción similar al guarumo de hasta el 40%, ratificando así su característica como hiperacumuladora de mercurio (Corrales, 2014)

Del mismo modo en el departamento del Valle del Cauca, en la ciudad de Cali-Colombia, específicamente en la micro-estación de investigación de Biología, de la Universidad del Valle, campus Meléndez, donde se llevó a cabo un estudio, en el cual se evaluó el efecto de las concentraciones de los metales pesados Hg_{+2} , Cd_{+2} , Cr_{+6} , Pb_{+2} , en la respuesta fisiológica y acumulación de MP de las especies: Malanga (*Colocasia esculenta*), Heliconia (*Heliconia psittacorum*) y caña brava (*Gynerium sagittatum*), sembradas en humedales sub-superficiales de flujo horizontal para el tratamiento de lixiviados de relleno sanitario. El análisis de datos se desarrolló con base en el factor de translocación de cada especie, el cual fue calculado dividiendo la concentración de metal acumulado en el tejido aéreo de la planta entre la concentración de metal acumulado en el tejido subterráneo de la planta; las concentraciones fueron reportadas en peso seco, y la producción de clorofila en cada una de estas, debido a que la presencia de los metales pesados en el medio, pudo activar el mecanismo de defensa de la planta ocasionando una mayor producción de enzimas ; concluyendo así que la Malanga y Heliconia fueron las especies

vegetales de mayor concentración de clorofila durante el estudio; y se demostró un buen desempeño de las especies para ser clasificadas como acumuladoras de los metales pesados estudiados en este trabajo. La caña brava fue la especie con el mejor desempeño para los cuatro metales, seguido de la *heliconia* y la *colocasia* respectivamente (Madera, Salamanca, & Solarte, 2014)

De igual manera las investigaciones se enfocan en aquellas zonas que implementan tecnologías hacia el rendimiento de los sistemas agrícolas mediante el uso de plaguicidas, fertilizantes y pesticidas, ya que son potenciales fuentes de metales pesados. Por esto en suelos agrícolas del valle medio y bajo del río Sinú en el departamento de Córdoba, se han detectado niveles de contaminación por metales pesados, como el mercurio; a causa del uso excesivo de agroquímicos en los cultivos; siendo este punto de partida para investigaciones acerca de que tan elevados son o si cumplen los límites máximos permisibles. La determinación específicamente de los niveles de mercurio se hizo mediante la técnica de absorción atómica con Vapor frío; llegando a concluir que estos se manifiestan en rangos mínimos que oscilan entre 0.042 – 0.410 µg/g, y que a pesar de estar en bajas concentraciones, estas pueden variar al estar asociados otros factores aportantes como la precipitación húmeda o seca del mercurio atmosférico de minas cercanas que puede viajar por cientos de kilómetros antes de ser depositado causando contaminación (Roqueme, Pinedo, Marrugo, & Aparicio, 2014).

Así mismo en el departamento del Meta, los suelos agrícolas de la región del Ariari, municipio de Fuente de Oro, presentan contenidos de metales pesados debido al sometimiento del suelo a usos agrícolas intensivos por más de 10 años. Tras un muestreo aleatorio y posterior análisis en laboratorio, se determinó que las concentraciones de los metales estudiados (Zn, Cu, Pb, Cr, Ni), ninguno supera los límites máximos permisibles planteados por la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos. Así mismo, según los parámetros físico-químicos, es probable que los metales pesados estén movilizándose en la matriz suelo-planta (Mahecha et al., 2015)

Es por esto que estas investigaciones son base conceptual para plantear alternativas que permitan dar respuesta a la problemática asociada a la recuperación de suelos contaminados con mercurio debido a la minería artesanal y al uso de plaguicidas en cultivos agrícolas. Por lo cual

este proyecto plantea por medio de un análisis comparativo entre especies vegetales ornamentales con potencial fitorremediador, determinar cuál presenta mayor eficiencia como bioindicadora de la presencia de mercurio (Hg) en el suelo.

CAPITULO III

Marco de Referencia

Marco Teórico

El recurso Suelo y su Contaminación

El suelo es un recurso y componente vital como soporte físico de los seres vivos, y fuente primordial de materias primas utilizadas por el hombre para desarrollar su condición de vida. Además es un mecanismo natural amortiguador de la biosfera que controla el transporte de elementos y sustancias químicas a la atmosfera, hidrosfera y biota (Solano, 2005) .

La contaminación de este recurso es hoy en día una de los temas ambientales más importantes para la sociedad y las autoridades competentes, a causa de esto la caracterización, evaluación y remediación de este es uno de los principales retos ambientales por abordar en los próximos años (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). . La contaminación edáfica, es toda alteración natural o antrópica de las características físicas, químicas, biológicas y geológicas del suelo, modificando sus equilibrios biogeoquímicos y su capacidad de amortiguación frente a los contaminantes, haciéndolo más vulnerable a futuros impactos ambientales (Crosara, n.d.). Una de las contaminaciones más evidentes en la actualidad frente a este recurso es la contaminación por inclusión de metales pesados a este debido a actividades antrópicas.

Contaminación por Metales pesados

Se entiende por metales pesados a todos aquellos elementos químicos metálicos que poseen una densidad alta y pueden llegar a ser tóxicos o venenosos en concentraciones pequeñas, causando diversos daños al entorno o al organismo receptor (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). Entre los metales pesados se encuentran dos grandes categorías: los metales no esenciales como el Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Arsénico (As), Cromo (Cr), Talio (Tl) y Mercurio (Hg)), y los

metales traza como el Cobalto (Co), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Molibdeno (Mo), Vanadio (V), Selenio (Se), y Zinc (Zn).

Los metales pesados, y en general los elementos traza, están presentes en bajas concentraciones (mg/kg) en la corteza terrestre, los suelos y las plantas; y la presencia de concentraciones nocivas de estos en los suelos es una degradación denominada contaminación. Los elementos traza en los suelos pueden ser de origen geogénico o antropogénico. Los elementos de origen geogénico proceden de la roca madre, de actividad volcánica, o de la lixiviación de mineralizaciones, son naturales y esenciales para el suelo. Los metales pesados antropogénicos derivan de residuos peligrosos, procedentes de actividades industriales, minería, industria agrícola, y residuos sólidos urbanos (RSU) (Galán Huertos & Romero Baena, 2008).

Sin embargo, el suelo actúa generalmente como una barrera protectora la cual filtra, descompone, neutraliza y almacena contaminantes, evitando así su biodisponibilidad. Esta capacidad depuradora del suelo depende de los contenidos en materia orgánica, carbonatos, oxihidróxidos de hierro y manganeso, así como el tipo de minerales de la arcilla, la capacidad de cambio catiónico del suelo, el pH y Eh (Potencial de óxido-reducción), textura, permeabilidad y actividad Microbiana (Galán Huertos & Romero Baena, 2008). El poder amortiguador que posee el suelo representa la capacidad que tiene para controlar los efectos negativos de los contaminantes presentes en él y volverlos inocuos o inactivos. Para los suelos agrícolas se ha definido la denominada Capacidad de Carga para Metales Pesados, que se encuentra influenciada por las propiedades y condiciones físico-químicas del suelo en el que se encuentran, como pH y Eh, mientras que los constituyentes orgánicos e inorgánicos del suelo son los que en gran medida condicionan los mecanismos de retención de metales por adsorción, complejación y precipitación fundamentalmente (Bernad et al., 2006).

Especiación del Mercurio (Hg) en el ambiente

“El mercurio es un elemento metálico de transición en el sistema periódico, de color plateado de masa atómica 200.59, ligeramente volátil a temperatura ambiente, y se solidifica a una presión de

7,640 atmósferas; se disuelve en ácido nítrico y en ácido sulfúrico, tiene un punto de fusión de -39 °C, un punto de ebullición de 357 °C y una densidad relativa de 13.5” (Yarto et al., 2004).

Este se presenta en la naturaleza bajo diferentes modalidades, algunos de los compuestos orgánicos más presentes en la corteza terrestre son: Cloruro de mercurio (HgCl), cloruro mercúrico (HgCl_2), (HgO) óxido de mercurio, (HgS) sulfuro mercúrico, $\text{Hg}(\text{NO}_3)$ nitrato de mercurio HgSO_4 , $\text{Hg}(\text{CNO})_2$ cianato de mercurio, y $\text{Hg}(\text{OH})_2$ hidróxido de mercurio (Yarto et al., 2004).

En la presente investigación no se empleara Mercurio elemental; se utilizara Oxido de Mercurio (HgO), el cual es un compuesto inorgánico del Mercurio, y se encuentra presente en los pesticidas como insumo activo. El Óxido de Mercurio es un sólido cristalino de color amarillo o rojo; cuyas propiedades físicas son: peso molecular es de 216,59 g/mol, densidad de 11,14 g/cm³ y punto de fusión de 500°C. Este compuesto es empleado ampliamente en la industria eléctrica, aurífera, de catalizadores y terapéutica debido a su solubilidad en ácidos orgánicos; debido a que este es uno de los compuestos más contaminantes y presentes en la atmosfera terrestre, como consecuencia a las reacciones de transformación llevadas a cabo en la atmosfera y estratosfera de mercurio puro (Hg) a su forma oxidada (Hg^{2+}) (Villarejo, 2014).

Biodisponibilidad de metales pesados en las Plantas

El grado de contaminación del suelo debe ser estimado teniendo en cuenta la biodisponibilidad o la posible asimilación por los organismos del suelo del contaminante, la cual se determina por la competencia entre el sistema radicular de la planta, la solución del suelo y la fase sólida del suelo (Bernad et al., 2006). Esta biodisponibilidad se puede ver reflejada en las especies vegetales en su comportamiento, es decir en su crecimiento, desarrollo reproductivo, sistema radicular, en su follaje o en sus tallos.

Algunas plantas presentan mecanismos muy eficientes para poder adquirir metales pesados que pueden estar en bajas concentraciones en el suelo, y son conocidas como hiperacumuladoras. Todas las plantas poseen un potencial para absorber una amplia variedad de

metales del suelo, pero, la mayor parte de las plantas tienden solamente a tomar los metales que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Sin embargo hay un número reducido de especies que pueden tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, estas son las llamadas hiperacumuladoras (Roque, n.d.)

Estas plantas hiperacumuladoras son especies usadas en investigaciones como agentes bioindicadores de fitorremediación, indicando así la presencia de metales pesados en las zonas de estudio; debido a esta propiedad exclusiva de ellas de captar y extraer el metal del suelo a través de sus raíces concentrándolo en sus tejidos. Dado esto para determinar esta biodisponibilidad o asimilación del contaminante por los organismos, en especial por la biota vegetal; se realizara una comparación entre las especies: Mostaza amarilla (*Sinapis alba*), Heliconia (*Heliconia psittacorum*) y Malanga (*Colocasia esculenta*), como bioindicadores en la contaminación de suelos por Mercurio (Hg).

***Heliconia psittacorum* L.F**

La *Heliconia* (Figura 1) es una planta perenne nativa de América de sur. Considerada originaria de la Guayana Francesa, Venezuela, Colombia, Brasil, Panamá, Trinidad y Tobago, y Paraguay. Su distribución geográfica en Colombia es especialmente en los llanos orientales y en algunas localidades de la selva Amazónica y en la vertiente andina (Universidad de Antioquia, 2008)

Esta planta pertenece a la familia de las Heliconiaceae y del género *Heliconia*. Se halla principalmente en el piso térmico tropical y de transición al premontano. Entre sus características taxonómicas se encuentra como una hierba musoide a canoide, de 0.5 -1.5 m de altura; hojas con pecíolo de 11- 32 cm de largo, algunas de color rojo-naranjas por lo común, con flores anaranjadas, rojas o amarillas y con ápices verde-oscuro (Universidad de Antioquia, 2008)

.



Figura 1. *Heliconia psittacorum*. Adaptado de “Universidad de Antioquia”, 2008.

Esta es una planta de uso ornamental, utilizada como flor de corte en la decoración de lugares abiertos como jardines urbanos o botánicos debido a su belleza natural. En un ambiente natural esta planta se da en suelos arcillosos y con pH entre 4 y 6.

Al momento de la siembra en campo se debe tener en cuenta el tamaño del rizoma y la bolsa, aunque es común hacerse de 50 cm de diámetro por 30 cm de profundidad. En cuanto al riego, en tiempos de verano un riego diario, y en volúmenes que dependen de la incidencia lumínica, aproximadamente entre 7 y 9 mm diarios (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2012).

Esta planta tiene una morfología compuesta por ramas rizomatosas con diferente patrón de colonización vegetativa; sus vástagos generalmente rectos se producen en número diferente de acuerdo con la especie. Cada vástago está formado por un tallo (técnicamente llamado pseudotallo) y hojas a menudo con inflorescencia terminal. Su tallo alcanza una longitud de 50 cm y varía dependiendo la especie; la hoja está formada por un pecíolo y una vaina sin lígula, la vena central muy visible y nervaduras laterales paralelas interconectadas por nervaduras terciarias. La lámina en general es de color verde pero en algunas especies están teñidas de rojo o marrón en el envés (Salamanca et al., 2013).

En cuanto su sistema radicular, la familia Heliconiaceae posee un sistema subterráneo, es decir que se introducen en el suelo; y son del tipo (Figura 2) estas están formadas por una raíz principal más gruesa y otras más delgadas que salen de ésta (Agromática, 2014).



Figura 2. Raíz Pivotante o Axonomorfas. Adaptado de “Agromática”, 2014.

Se ha registrado que la especie de *Heliconia* (*Heliconia psittacorum*) tiene un gran potencial de acumular altas concentraciones de elementos trazas altamente tóxicos por lo que se conoce como una planta acumuladora y puede ser usada para técnicas de biorremediación (Madera et al., 2014)

***Colocasia esculenta* L.S**

La Malanga (*Colocasia esculenta*) (Figura 3) es una especie de planta herbácea de la familia Araceae y del género *Colocasia*. Esta posee un tubérculo esponjoso rico en almidón subterráneo el cual alcanza un diámetro de 6 cm; en la parte superior en el desarrollo de la planta, las hojas son peltadas, con la lámina que alcanza aproximadamente de 32–36 cm de largo y 22–70 cm de ancho (Universidad de Antioquia, 2008)



Figura 3. *Colocasia esculenta*. Adaptado de “Cool Tropical Plants”, 2010.

Esta especie se encuentra a lo largo de toda América, se ubica en México, Islas de Caribe, Centroamérica, Suramérica, Asia, África e Islas del océano pacífico y Australia. Usualmente forman grandes agrupaciones alrededor de cuerpos de agua como manantiales, estanques, canales y otras áreas húmedas (Catálogo de la Biodiversidad de Colombia, 2008).

El crecimiento de esta planta tarda aproximadamente de 2 a 3 meses para obtener plántulas de 30 cm; por esto al momento de plantar se debe contar con 30 cm de suelo plantable debido al tamaño que alcanza esta (Cool Tropical Plants, 2010).

Esta planta presenta raíces de tipo tuberosas (Figura 4), cuya estructura es fasciculada en las que se producen engrosamientos por acumulación de sustancias de reserva (Botanical, 2014).

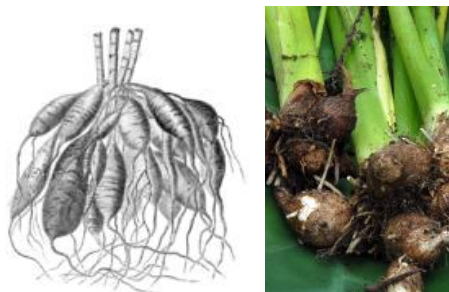


Figura 4. Raíces Tuberosas. Adaptado de “Botanical”, 2014

Se ha registrado que la especie de malnaga (*Colocasia esculenta*) tiene un gran potencial de acumular altas concentraciones de elementos trazas altamente tóxicos por lo que se conoce como una planta acumuladora y puede ser usada para técnicas de biorremediación (Madera et al., 2014).

***Sinapis alba* L.**

La mostaza amarilla (*Sinapis alba*) es una especie anual dicotiledónea (hoja ancha), perteneciente a la familia de las Brassicaceae crucíferas del genero *Sinapis*. Conocida en el mercado como mostaza amarilla y cultivada comercialmente por sus semillas de mostaza.

La *Sinapis alba* (Figura 5) es una herbácea anual, que crece por la dispersión de las semillas normalmente de 2 a 3,5 mm de diámetro; posee un tallo ramificado, cerdoso cubierto de vellosidad (tricomas) ; alcanzando una altura entre 30-60 cm de altura, normalmente en suelos fértiles alcanza de 50 a 120 cm de altura; las hojas inferiores tienen peciolo y lóbulos partidos, y las superiores con peciolo y sinuado-dentadas; y un sistema radicular de tipo pivotante (Figura 2) (Fondo Europeo de Desarrollo Regional, 2015).



Figura 5. *Sinapis alba*. Adaptado de “NaturaGates, n.d.”.

Esta especie vegetal se desarrolla en prácticamente todo el mundo, sin embargo originaria de la región mediterránea; adaptable a habitas de jardines, espacios baldíos, vías férreas, volviéndose sobreviviente y silvestre en lugares agrestes.

Esta planta cuenta con periodo de floración entre los meses de Julio y Septiembre, el poder germinativo de las semillas es muy bajo inmediatamente después de la maduración, pero alto una vez transcurrido el verano, superando fácilmente el 90%; emergiendo con las lluvias de otoño cuando las precipitaciones superan los 40-50 mm; florecerá y sobrevivirá la plántula siembre y cuando la humedad y temperatura sean favorables (Fondo Europeo de Desarrollo Regional, 2015).

Se ha registrado que la especie de mostaza tiene un gran potencial de acumular altas concentraciones de elementos trazas altamente tóxicos por lo que se conoce como una planta hiperacumuladora y puede ser usada para técnicas de biorremediación (Corrales, 2014)

Bioensayos Toxicológicos en suelo

Al usar estas especies hiperacumuladoras como bioindicadoras de la presencia de metales pesados en el suelo, llegando determinar la biodisponibilidad o asimilación de estos en la biota vegetal, y poder concluir cual especie presenta mayor afinidad como bioindicadora, se desarrollaron bioensayos toxicológicos ex situ (Serrano, 2003).

Un bioensayo toxicológico, es una herramienta o prueba diagnóstica usada para determinar la concentración y efecto de agentes fisicoquímicos tóxicos sobre los organismos (Pruebas dosis respuesta). Estos bioensayos pueden ser in situ o ex situ; para la investigación

fueron bioensayos ex situ, es decir se llevaron a cabo fuera del ecosistema del cual proviene los organismos o individuos de estudio (especies vegetales), por esto es importante contemplar un tiempo adaptativo de las especies al entorno controlado de estudio (Serrano, 2003).

Tipos de Bioensayo

I. Duración o cantidad de especies

- Ensayo de toxicidad aguda: Se produce un efecto letal o subletal sobre los organismos en un periodo de exposición corto (24 - 48 horas).
- Ensayo multi-especies: Pruebas que incluyen más de una especie, mediante las cuales se evalúan las alteraciones producidas por interacciones entre organismos.
- Ensayo de toxicidad crónica: Genera efectos tóxicos a largo plazo, provocando cambios en el metabolismo, crecimiento o supervivencia. Los ensayos se hacen durante un largo periodo a una exposición continua.

II. Método de incorporación al sistema

- Estático: los organismos y soluciones de las pruebas son almacenados en cámaras durante el tiempo que dure la investigación
- Con recirculación: es una mezcla entre el método estático pero con circulación cambio de la solución de estudio a través de las cámaras.
- Con renovación: método estático con circulación o recambio en una parte de las soluciones a las que están expuestas los organismos.
- De flujo continuo: la solución se reemplaza a lo largo de todo el bioensayo constantemente.

De igual forma dependiendo el tipo de investigación, el toxico tiene diferentes vías de administración dependiendo el organismo que se use como medio indicador. En el caso de

animales se puede administrar vía oral en la comida, o por medio de inyecciones, por vía respiratoria o por contacto. En el caso de vegetales, la exposición se puede realizar vía sistémica o por contacto (Serrano, 2003).

Factores del diseño experimental para un bioensayo

Independientemente del tipo de bioensayo aplicado en la investigación, todos tienen la misma finalidad; ver la reacción de un organismo (vegetal o animal) como respuesta a una exposición controlada de un tóxico. Sin embargo hay factores que se deben tener en cuenta al momento de aplicar el diseño experimental (Serrano, 2003):

I. Selección y determinación del organismo.

Los organismos deben pasar por un tiempo de adaptación, con el fin de determinar la buena condición de este, comprobando que no ha sufrido cambios por el cambio de condiciones ambientales o de transporte. Si durante este tiempo la mortalidad de especies es mayor al 1%, el organismo no es adecuado para el bioensayo.

II. Réplicas

Para cada uno de los tratamientos se deben realizar replicas para mantener un tratamiento estadístico adecuado.

III. Reparto aleatorio de los organismos entre los grupos

Para hacer las observaciones independientes es necesario mantener la aleatoriedad en el reparto de organismos en los distintos grupos y ubicando cada organismo en una urna.

IV. Determinación del efecto

Dependiendo la investigación el efecto a estudiar por cada método es diferente; algunas veces es la mortalidad o algún efecto subletal que afecte el crecimiento, movilidad o cualquier característica propia del organismo de estudio.

V. Controles

Todo diseño experimental debe contar con organismos control, los cuales no son expuestos a él bioensayo; por esto son fundamentales para determinar la fiabilidad y éxito del experimento; debido a que la mortalidad en estos grupos debe ser nula.

VI. Finalización del experimento

Una vez terminada la etapa experimental, se recolectan los datos y son analizados estadísticamente. Así mismo se debe considerar la limpieza de las áreas trabajadas debido al riesgo de permanencia del toxico.

Marco Conceptual

El Mercurio (Hg) es un metal que presenta efectos nocivos sobre el medio ambiente y los seres vivos, debido a su capacidad de bioacumularse afectando la integridad de los ecosistemas y la salud del hombre; se entiende por bioacumulación al proceso por el cual los organismos que viven en un medio que contiene una concentración relativamente baja de una sustancia química, pueden llegar a acumular en sus tejidos dicha sustancia, alcanzando concentraciones más altas de lo existente en el medio (Galván, 2010).

Cuando el toxico entra en contacto con el tejido vegetal o animal, este desarrolla una biodisponibilidad, siendo esta la fracción de una dosis química toxica de un compuesto, elemento o sustancia administrada, que entra en la circulación sistémica de un organismo (Vegetal o Animal) (Silbergeld, n.d.).

Una vez se presenta la contaminación edafológica, esta puede causar la degradación y pérdida de productividad, repercutiendo negativamente en el comportamiento del mismo. Por esto existen diversas técnicas mediante las cuales se busca recuperar o remediar este suelo contaminado; una de estas herramientas es la fitorremediación; este es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en el suelo, lodos y sedimentos, y puede aplicarse tanto in-situ como ex-situ (Corrales, 2014).

Las plantas que tienen la capacidad de absorber una amplia variedad de metales del suelo, pero la mayor parte de las plantas tienden solamente a tomar los metales que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Sin embargo algunas poseen un potencial de hiperacumulación, que es la capacidad de bioacumular, tolerar, absorber y traslocar altos niveles de ciertos metales pesados, así estos estén en bajas concentraciones en el medio (Roque, n.d.) .

Debido a esta capacidad de acumular elementos tóxicos en altos niveles estas especies vegetales son usadas en el ámbito de la investigación como bioindicadoras, es decir un organismo vivo de origen vegetal o animal, utilizado para determinar y evaluar el índice de contaminación de un lugar (suelo, aire o agua) (Galván, 2010); esta presencia se manifestaría como una respuesta es decir una medición del efecto biológico (muerte, cambios en la reproducción, crecimiento, movimiento, fisionomía, entre otros) a una alteración externa (Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa, n.d.).

Marco Legal

La normatividad ambiental nacional e internacional vigente aplicada al presente proyecto se basa en torno a un marco legal comprendido por resoluciones, decretos, ordenanzas y leyes pertenecientes a usos del suelo (Tabla 1), al uso de plaguicidas, pesticidas y fungicidas (Tabla 2); y límites máximos permisibles del mercurio en suelos (Tabla 3).

Tabla 1.*Marco legal normativo nacional colombiano para el factor suelo*

FACTOR	NORMA	ARTICULO	DESCRIPCIÓN
SUELO	Decreto - Ley 2811 de 1974	Art 178	El suelos del territorio nacional deberá usarse de acuerdo con sus condiciones y factores constitutivos
		Art 179	El aprovechamiento de los suelos deberá efectuarse de tal forma que se mantenga su integridad física y su capacidad productora, evitar su degradación, lograr su recuperación y asegurar su conservación.
		Art 181	Velar por la conservación de los suelos para prevenir y controlar fenómenos de erosión, degradación, salinización o revenimiento;
		Art 182	Los suelos en estado de degradación o explotación serán tratados para su recuperación
		Art 183	Los proyectos de adecuación o restauración de suelos deberán fundamentarse en estudios técnicos de los cuales se induzca que no hay deterioro para los ecosistemas.
		Art 184	Para actividades industriales se desarrollaran estudios ecológicos y se adelantarán según las normas la protección y conservación de suelos.
	Ley 99 de 1993	Art 17	Se crea el Instituto IDEAM, el cual deberá obtener, analizar, estudiar, procesar y divulgar la información básica sobre hidrología, geografía, geomorfología de suelos y cobertura vegetal; para el manejo y aprovechamiento de los recursos biofísicos de la Nación
		Art 31	Funciones de las corporaciones autónomas regionales en cuanto a la protección del medio ambiente
	Ley 388 de 1997	Art 30	Clases de suelo de acuerdo al POT: suelo urbano, rural y de expansión urbana, suburbano y de protección,

Nota: Normatividad Colombiana del factor suelo correspondiente a Decretos y Leyes aplicables al recurso. Adaptado de “Decreto Ley 2811/1974”, “Ley 99/93” & “Ley 388/97”; por Domínguez, 2017.

Tabla 2.*Marco legal normativo Nacional Colombiano para plaguicidas, fungicidas y pesticidas*

FACTOR	NORMA	ARTICULO	DESCRIPCIÓN
PLAGICIDAS PESTICIDAS FUNGICIDAS	Decreto 1843 de 1991	Art 4	Entidades públicas y privadas deberán aplicar un uso, manejo y disposición adecuada de plaguicidas, con el objeto de garantizar la salud de la comunidad y la preservación de los recursos agrícolas, pecuarios y naturales renovables.
		Art 13	Clasificación toxicológica y del permiso de uso en el país de plaguicidas.
		Art 14	Clasificación toxicológica de los plaguicidas: Extremadamente tóxicos, altamente tóxicos, medianamente tóxicos, ligeramente tóxicos.
	Decreto 1443 de 2004	Art 1	Medidas ambientales para el manejo de los plaguicidas, y para la prevención y el manejo seguro de los desechos o residuos peligrosos provenientes de los mismos
		Art 14	Consumo de plaguicidas.
		Art 17	Las autoridades ambientales controlarán y vigilarán el manejo de los plaguicidas, y de los residuos o desechos peligrosos provenientes de los mismos.
	Resolución 150 de 2003	Art 2	Principales fuentes de fertilizantes y acondicionadores del suelo.
	Ley 822 de 2003	Art 2	El ICA será la autoridad nacional competente responsable de organizar y asegurar el desarrollo y ejecución de los procedimientos de registro y control de los agroquímicos de uso agrícola.
		Art 5	Para la expedición del registro de venta de un agroquímico genérico

Nota: Normatividad Colombiana con base en Decretos, Leyes y Resoluciones aplicables al manejo y disposición de residuos de plaguicidas, funguicidas e insecticidas. Adaptado de “Decreto 1843/1992”, “Decreto 1443/2004”, “Resolución 150/2003” & “Ley 822/2003”; por Domínguez, 2017.

Tabla 3.*Marco Legal Normativo Colombiano para el Mercurio*

FACTOR	NORMA	ARTICULO	DESCRIPCIÓN
MERCURIO	Decreto 1594 de 1984	Art 7	Establece la concentración para el control de la carga de sustancias de interés sanitario 0,02 mg/l.
		Art 20	Establece que el mercurio es una sustancia de interés sanitario
		Art 45	Establece los límites permisibles de mercurio para preservación de la flora y la fauna en 0.001 mg/l.
	Ley 1658 de 2013	Art 3	Erradicación el uso del mercurio en todo el territorio nacional, en todos los procesos productivos industriales y productivos en un plazo no mayor a diez (10) años y para la minería en un plazo máximo de cinco años.
		Art 6	Producción más limpia en las diferentes actividades industriales y mineras, para alcanzar la meta propuesta de eliminación del uso del mercurio.

Nota: Normatividad Colombiana correspondiente al uso, disposición y LMP del Mercurio en actividades antrópicas. Adaptado de “Decreto 1594/1984” & “Ley 1658/2013”; por Domínguez, 2017.

En cuanto a la legislación ambiental internacional, se presentan los límites máximos permisibles de mercurio en suelos dependiendo su uso y en plaguicidas, en países como México, Alemania, Chile Canadá, Estados Unidos y Unión Europea. En la Tabla 4 se pueden observar los límites máximos permisibles de metales pesados en suelos de uso agrícola en distintos países.

Tabla 4.*Concentración máxima permitida de metales pesados en suelos agrícolas.*

País		Elemento (mg kg ⁻¹)								
		As	Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn	Cr
Chile ¹	Macrozona norte pH >6,5	20	2	150	1,5	112	75	4	175	n.n.
	Macrozona Norte pH < 6,5	12,5	1,25	100	1	50	50	3	120	n.n.
	Macrozona sur pH > 5	10	2	75	1	30	50	4	175	n.n.
U E ²		n.n.	1-3	50-140	1-1,5	30-75	50-300	n.n.	150-300	100-150
	Francia	n.n.	2	100	1	50	100	n.n.	300	150
	Italia	n.n.	1,5	100	1	75	200	n.n.	300	-
	España	n.n.	0,4	40	0,3	30	40	n.n.	100-150	60
Turquia ³	Suelos pH > 5	n.n.	3	100	2	50	100	n.n.	300	100
Australia ⁴	Suelos pH < 5	20	1	100	1	60	150	5	200	100
US ⁵		n.n	20	750	8	210	150	n.n	1400	1500
Canada ⁶	Suelos pH>6	14	1,6	100	0,5	32	60	1,6	220	20

Nota: LMP de metales pesados en el suelo de diferentes países. Adaptado de “Servicio Agrícola y Ganadero de Chile, n.d.

Según la Agencia de protección Ambiental (EPA), hay una serie de valores de referencia en cuanto a las concentraciones críticas o tóxicas en el suelo en algunos países para algunos metales, como se evidencia en la Tabla 6 (Alcaino, 2012).

Tabla 5.

Concentración crítica de metales pesados en suelos, con efectos tóxicos en la salud humana

Elemento	Rango normal en suelos (mg/kg)	Concentración crítica en suelos (mg/kg) (*)
Arsénico	0.01-8	20-50
Plomo	2-300	100-400
Cadmio	0.01-2	3-8
Níquel	2-750	100
Cobre	2-250	60-125
Zinc	1-900	70-400

Nota: Límites permisibles tóxicos de metales pesados en el suelo con efecto en la salud pública. Adaptado de Alcaino, 2012.

La norma oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por metales pesados (Tabla 6) (Alcaino, 2012).

Tabla 6.

Concentraciones de referencia totales de la norma oficial mexicana

Contaminante	Uso agrícola/residencial/comercial (mg/kg)	Uso Industrial (mg/kg)
Arsénico	22	260
Bario	5400	67000
Berilio	150	1900
Cadmio	37	450
Cromo Hexavalente	280	510
Mercurio	23	310
Níquel	1600	20000
Plata	390	5100
Plomo	400	800
Selenio	390	5100
Talio	5,2	67
Vanadio	78	10000

Nota: Concentración de metales pesados en el suelo de México. Adaptado de Alcaino, 2012.

CAPITULO IV

Metodología

En este proyecto investigativo de carácter experimental, con enfoque cuantitativo se llevó a cabo una medición y registro de las variables respuesta de naturaleza arbitraria, que hacen referencia a las propiedades cuya variación con respecto al factor de diseño que es el foco de la indagación planteada. Por consiguiente las variables respuesta son las propiedades físico-químicas del suelo (pH, contenido de Fosforo, Nitrógeno y Potasio), crecimiento y porcentaje de área foliar afectada de las especies vegetales de estudio; y se establece como factor de diseño, el grado de susceptibilidad a la contaminación por diferentes concentraciones de Oxido de mercurio (control; 0.6; 1.5; 2.5; 5 y 10 mg/L), en las variables respuesta; para evaluar la capacidad de las plantas como bioindicadoras de la contaminación de suelos por Oxido de mercurio.

En torno al análisis estadístico aplicado a los datos, se utilizaron dos métodos estadísticos haciendo uso del software IBM SPSS Statistics; el primero el *Coefficiente de Correlación Spearman*, con el cual se evaluaron las correlaciones entre el daño foliar y los diferentes tratamientos aplicados en ambas especies vegetales, haciendo en primer lugar una comparación entre ambas especies, con el fin de identificar si la influencia del contaminante sobre el sistema foliar es la misma en ambas especies y de esta forma, responder a las hipótesis:

- **H_0 :** Los diferentes niveles de HgO producen diferentes efectos en ambas especies
- **H_1 :** Los diferentes niveles de HgO producen mismos efectos en ambas especies

Seguido de una comparación de bloques de cada especie por separado con el fin de identificar la influencia del contaminante sobre el sistema foliar de cada especie, y de esta forma dar respuesta a las hipótesis:

- **H_0 :** Todas las concentraciones de HgO producen el mismo daño foliar
- **H_1 :** A concentraciones más altas de HgO el daño foliar es mayor.

Para el segundo método de análisis se utilizó una comparación de medias a través de la prueba *T-student para muestras relacionadas*, en la cual se evaluaron las variaciones entre los niveles de

Nitrógeno, Fosforo, Potasio y pH en el suelo, pre-tratamiento y pos-tratamiento en función de los diferentes tratamientos aplicados en ambas especies vegetales, y de esta forma responder a las hipótesis:

- H_0 = Los niveles de nutrientes pos-tratamiento $\geq$ a los niveles de nutrientes pretratamiento
- H_1 = Los niveles de nutrientes pos-tratamiento $\leq$ a los niveles de nutrientes pretratamiento

Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo de manera ex-situ a través de un invernadero situado en la finca Danilo (Latitud 4° 9.110' N – Longitud 73° 37.394' O) (Anexo 1), la cual está ubicada en el área urbana de la ciudad de Villavicencio (Figura 6); donde se ubicaron los individuos de estudio para cada una de las especies, dándole a estos conjuntamente las mismas condiciones ambientales climáticas a lo largo del estudio.

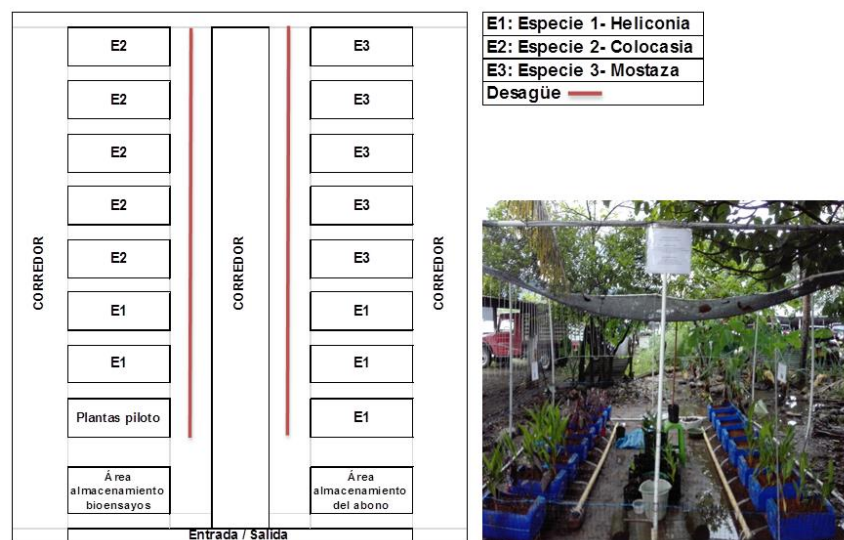


Figura 6. Estructura Física del Invernadero. Adaptado de Domínguez, 2017.

Tamaño de la Muestra

El tamaño de la muestra se encuentra mediado por el número de individuos de cada especie por cada concentración de Óxido de mercurio. Para esta investigación se contemplaron seis (6) individuos para cada especie en relación a cada dosis, para un total de 90 individuos a los cuales se les aplicaron los tratamientos (Figura 7).

Adicional a estos seis individuos se evaluaron dos (2) más que fueron plantas testigo las cuales no tuvieron contacto con el contaminante y sirvieron de comparación frente a los individuos que si lo estuvieron a lo largo de la investigación.

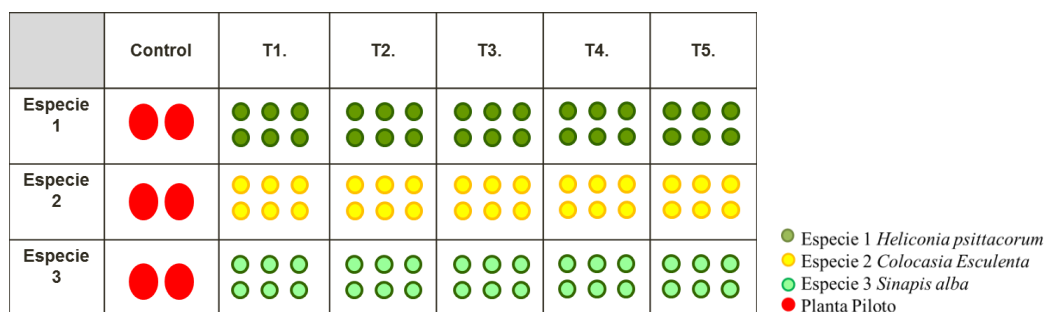


Figura 7. Croquis de distribución espacial de las especies de estudio. Adaptado de Domínguez, 2017.

Fases Metodológicas de Investigación

Para el desarrollo del estudio se plantearon seis (6) fases metodológicas, en las cuales se establecieron los procedimientos necesarios para determinar la especie vegetal que presenta mayor afinidad como bioindicadora de los suelos contaminados por mercurio de acuerdo a su capacidad fitorremediadora.

Fase 1. Obtención, preparación y adaptación de las muestras de suelo.

Se llevó a cabo la elaboración del invernadero a partir de tubos de PVC, polisombra y malla negra, de dimensiones 4m x 4m x 2m (Figura 6); en el cual se dispusieron los individuos de estudio para cada una de las especies, dándole a estos conjuntamente las mismas condiciones ambientales a lo largo del estudio.

Una vez establecida la zona de estudio se procedió a la obtención del suelo natural sin abono, en los cuales se trasplantaron los individuos de estudio y se llevó a cabo los bioensayos. Así mismo, este suelo se colocó en recipientes plásticos, los cuales permitieron aislar la porción de suelo y hacer recolección del mercurio que salía por filtración a través de un sistema de desagüe.

Fase 2. Trasplante y adaptabilidad de las especies

Una vez se obtuvo el suelo de estudio se procedió a la compra y trasplante de las plántulas de tres meses; por lo que fue necesario un periodo de adaptabilidad de 50 días, en el que las plantas pudieron adaptarse a las condiciones del suelo con el fin de determinar la buena condición de este, comprobando que no sufrió cambios o modificaciones por la variabilidad de las condiciones ambientales o el transporte. Si durante este tiempo la mortalidad de especies hubiese sido mayor al 1%, no era adecuada para el bioensayo.

Sin embargo, para un mejor crecimiento y desarrollo de las mismas se debe tener en cuenta las características físicas, químicas y los requerimientos nutricionales de cada una.

Fase 3. Estudio del suelo testigo previo a los bioensayos.

Transcurrido el tiempo de adaptabilidad de las plantas, se realizaron análisis en cuanto a las propiedades fisicoquímicas del suelo testigo; esto con el fin de establecer la condiciones edáficas iniciales (pH, densidad aparente, densidad real, contenido de materia orgánica, porosidad, contenido de nitrógeno, fósforo y potasio). Lo anterior se desarrolló a partir de un muestreo compuesto representativo de cada bloque; para esto se tomaron muestras con un tubo de muestreo del espacio de raíces de la planta de arriba abajo; recolectando y mezclando bien de 8 a 10 muestras por cada bloque de suelo, es decir, en total 15 muestras de suelo compuestas, asegurando resultados representativos. Posterior a esto las muestras fueron secadas al aire durante 24 horas, y finalmente tamizadas; asumiendo una base comparativa en cuanto a la reacción del suelo frente a los bioensayos.

Fase 4. Desarrollo de los bioensayos.

Para definir la sensibilidad de las especies al Óxido de mercurio, se emplearon las siguientes concentraciones 0.6; 1.5; 2.5; 5 y 10 mg/ L (Iannacone & Alvarino, 2005); dado que este elemento en bajas dosis genera mayores riesgos para la salud humana, ya que pueden ser absorbidos por el tejido humano y bioacumularse en algunos órganos; en el caso de las plantas igualmente este tiende a bioacumularse y ser consumidos en la dieta diaria.

El método de suministro del metal en estudio se hizo mediante una única disolución del Oxido de Mercurio en el agua de riego (250 ml para cada concentración en ambas especies) cada ocho (8) días durante dos (2) meses para las plantas bioindicadoras, facilitando la absorción de este en el suelo y posterior transporte a las plantas a través del sistema radicular. Durante este tiempo de exposición se llevaron a cabo monitoreos de los parámetros de estudio pre-tratamiento y pos-tratamiento, llevando un control de los cambios foliares y de propiedades del suelo.

Fase 5. Medición de los parámetros físico-químicos edafológicos, y el porcentaje de área foliar afectada.

En este proyecto las variables de respuesta fueron las propiedades físico-químicas del suelo textura, color, densidad real y aparente, porosidad, pH, materia orgánica y contenido de Fosforo (P), Nitrógeno (N) y Potasio (K)); y el porcentaje de área foliar afectada de las especies vegetales de estudio (Anexo 2).

Para la medición de los parámetros físico-químicos del suelo se contó con la ayuda del equipo de laboratorio La Motte STH-4 básico, con el cual se llevó a cabo la medición de los parámetros de pH, Nitrógeno, Fósforo, Potasio y contenido de materia orgánica; y en cuanto a la textura y el color se desarrolló teniendo en cuenta la Guía RASTA del CIAT.

Para las pruebas de laboratorio de los parámetros físico-químicos del suelo se realizó un proceso de extracción de una muestra de extracto general de suelo inicial a partir de la cual se tomaron muestras para las pruebas de pH, Potasio, Nitrógeno y Fosforo.

Tabla 7.

Mediación de los parámetros físico-químicos del suelo.

PARÁMETRO	FORMA DE MEDICIÓN
Textura y Color	Para la medición de estos parámetros físicos se desarrolló el paso a paso propuesto por la guía RASTA del Centro Internacional de Agrícola Tropical (CIAT), determinando la textura del suelo de estudio a través del tacto, y el color por medio de la comparación con la carta de colores (Cock, Álvarez, & Estrada, 2011).

Tabla 7. (Continuación)

pH	Para la prueba de pH se llenó 1/3 del tubo de ensayo con suelo y se agregó agua desmineralizada (1155) hasta ½” de la parte superior y se agito. Posteriormente añadir 5 gotas del reactivo de floculación del suelo (5643WT) y se agito. Con la ayuda de una pipeta se transfirió 1ml de la solución a una de las placas de mancha (0159) y una segunda muestra de 1ml a otra placa de punto. Finalmente se adicionaron dos gotas de indicador dúplex (2221) y se comparó la reacción de color con la gráfica de color dúplex (1313).
Densidad Real	La medición de la densidad real se desarrolló con base en la metodología del Picnómetro del Manual de prácticas de campo y del laboratorio de suelos del centro agrario del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) (Gómez Giraldo, 2013).
Densidad Aparente	La medición de la densidad aparente se desarrolló con base en la metodología del terrón parafinado del Manual de prácticas de campo y del laboratorio de suelos del centro agrario del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) (Gómez Giraldo, 2013), aplicando una temperatura de 150°C durante 30 minutos para secar el terrón.
Porosidad	La medición de la porosidad se desarrolló con base a la metodología propuesta por el Manual de prácticas de campo y del laboratorio de suelos del centro agrario del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) (Gómez Giraldo, 2013).
Materia orgánica Humus	Para esta prueba se mezcló 14 ml de agua desmineralizadora (1155) con una muestra de suelo y se agito, se adicionaron dos medidas de 0,5g del reactivo Humus Screening Reagent Powder (0698), se agito durante 1 minuto. Posteriormente se añadieron 15 gotas del reactivo de floculación de suelo (5643), y se dejó reposar durante varios minutos. Con la ayuda de un papel filtro (0465) y un embudo (0459) se filtró la mezcla en un tubo de extracción y comparo con la carta de color humus color chart (1384).
Fósforo	Para la prueba de fosforo La Motte ofrece el kit de prueba Modelo NF (Código 5090) para suelos. Con la ayuda de una pipeta se llenó un tubo “Phosphorous B” (0244) a la marca con el extracto general del suelo; luego se adicionaron 6 gotas del Phosphorous Reagent 2 (5156), y agito. Posteriormente se agregó una tableta de Phosphorous Reagent 3 Tablet (5157) y se agito hasta la disolución de esta. Finalmente se comparó el color obtenido con la carta de colores (1312).

Tabla 7. (Continuación)

Potasio	Con la ayuda de una pipeta de transferencia (0364) se tomó una muestra de extracto general de suelo inicial del tubo (0704) a un tubo de potash “A” (0245); luego se añadió un comprimido Potassium Reagent B Tablet (5161), y se agito hasta que esta se disolviera. Posterior a esto se adiciono Potassium Reagent C (5162) hasta el tubo potash “A” hasta que se formó un precipitado; se colocó un tubo potash “B” vacío sobre la placa de lectura (1107) (rectángulo con una línea negra), y con una pipeta de se transfirió una muestra del tubo potash “A” y añadió lentamente el contenido en el tubo “B” hasta que la línea negra de la placa de lectura desapareció.
Nitrato	Con la ayuda de una pipeta de 1 ml (0354) se tomó una muestra de extracto general de suelo inicial del tubo (0704) y transfirió a una placa de depreciación de mancha (0159); se añadieron 10 gotas del reactivo Nitrate Reagent #1 (5146), y posteriormente se adiciono 0,5 g de Nitrate Reagent 2 Power (5147) con la ayuda de una cuchara (0698), se revolvió y dejo reposar. Por último se comparó con la tabla de comparación de color de Nitrato de nitrógeno (1315).

Nota: Metodología pasó a paso aplicada en la medición de los parámetros físico químicos edafológicos. “Adaptado del Manual La Motte STH-4 básico”, “Gómez Giraldo, 2013” & “Cock et al., 2011”; por Domínguez, 2017.

Con respecto a la determinación cualitativa de los efectos sobre el crecimiento y área foliar afectada de las especies vegetales, se utilizó el Software CobCal, el cual está diseñado para el cálculo de cobertura vegetal y basa su funcionamiento en la colorimetría, realizando una medición y cuantificación de colores de la planta estudiada a partir de la selección de tres colores, dos positivos (+) y que se tendrán en cuenta al momento de hacer el cálculo de área foliar afectada, y uno negativo (-) que no será tenido en cuenta por el software (INTA, 2011). Siendo los colores positivos el área de la hoja afectada y la hoja en su área total.

Primero realizo un escaneo de las hojas correspondientes a las especies en estudio, permitiendo al programa establecer el porcentaje afectado de la superficie muestral; esto en base a un algoritmo especialmente diseñado para el procesamiento de las imágenes digitales.

El cálculo del área afectada, tomado de Ferrari, et al. (2009), es semiautomático y se debe proveer al programa de cierta información inicial para que pueda llegar al resultado,

indicando varias imágenes, un área relevante a procesar y varios colores representativos para el análisis.

Fase 6. Recopilación y análisis de los resultados obtenidos.

Las plantas tuvieron un seguimiento en cuanto a foliación, desarrollo, caída de hojas así como cambios en la coloración. Este seguimiento se realizó con un muestreo pre-tratamiento y otro pos-tratamiento (Bioensayos), para reconocer la sensibilidad de las plantas a la dosificación de mercurio en suelo, haciendo registro del estado y variación de los individuos respecto a las muestras testigo.

CAPITULO V

Resultados y análisis de resultados

Atendiendo al objetivo general de esta investigación, así como considerando a los objetivos específicos, en este capítulo se muestran los resultados obtenidos en el desarrollo de la quinta fase metodológica la cual se divide en dos, la medición de los parámetros físico-químicos, y el análisis de porcentaje foliar afectado; estos serán presentados a través de una descripción de los procesos de laboratorio y de tablas, antes y después de los bioensayos. Finalmente se evidenciará el análisis estadístico aplicado a los resultados haciendo uso del software IBM SPSS Statistics.

En primer lugar se presentan los resultados de los análisis preliminares edafológicos de los parámetros físico-químicos para determinar las condiciones iniciales del suelo y tener un referente de comparación previo a los bioensayos.

Resultados Edafológicos preliminares**1. Prueba de Textura y Color**

Se logró determinar a través de pruebas organolépticas la textura y color del suelo en estudio como se puede observar en la Tabla 8.

Tabla 8.

Análisis edafológico – Prueba de Textura y Color

PRUEBA	METODOLOGÍA	RESULTADO
Textura	Prueba Organoléptica	Arcillo-Arenoso (ArA)
Color	Tabla de colores de Munsell	7.5YR 5/14 – 7.5YR 6/14

Nota: Resultados de la medición de los parámetros físicos del suelo. Adaptado de Domínguez, 2018.

Como se observa en la (Tabla 8) se logró determinar que el suelo en estudio es de textura Arcillo-Arenoso (ArA) debido a que no es grumoso, es algo pegajoso, liso y en húmedo los terrones se desmenuzan con facilidad. Así mismo en cuanto a la resistencia al rompimiento, en suelo seco es dura con formación de terrones, y en suelo húmedo es friable.

La gama de colores encontrada en el suelo corresponde a suelos marrones rojizos indicando presencia de hierro (Figura 8). Como consecuencia a procesos de meteorización de los minerales primarios que contienen hierro origina la aparición de minerales secundarios propios del clima tropical de la ciudad de Villavicencio presentando formación de Fe_2O_3 , Fe_2O_3 y $\text{FeO}(\text{OH})$ (Universidad Javeriana de Jaén, n.d.), presentando estos colores característicos de los suelos de la Orinoquia, Oxisoles, Ultisoles y algunos Inceptisoles, donde predomina como ya mencionado el hierro, elemento que en condiciones de buena aireación y buen drenaje sufre un proceso oxidante, dando este color característico entre marrones, pardos y rojizos.



Figura 8. Color identificado en el suelo. Adaptado de “Cock et al., 2011”; por Domínguez, 2018.

2. Prueba de pH

Se logró determinar a través de pruebas de colorimetría de amplio y estrecho rango el pH del suelo de estudio (Tabla 9), el cual está entre 5.0-5.4. Para la prueba de rango estrecho de pH se empleó el reactivo clorofenol rojo determinando así un valor más aproximado de 5.4, es decir un **pH Ligeramente Ácido**.

Dado que en el Departamento del Meta predominan los suelos ácidos con un rango entre 4.4 a 5.5, el pH encontrado está entre este rango. Los suelos con pH ácidos presentan un limitante en cuanto a la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas por la baja actividad microbiana.

3. Densidad Real

Los resultados obtenidos a lo largo del proceso de laboratorio se pueden observar en la Tabla 9, corresponden a los valores del peso del picnómetro vacío, con agua destilada y suelo.

Tabla 9.*Prueba de Densidad real*

PRUEBA DE DENSIDAD REAL			
ANTES DE LA EBULLICIÓN			
PICNÓMETRO	picnómetro vacío	Peso del suelo	Peso Total
A	20,6 gr	10 gr	30,6 gr
B	22,6 gr	10,1 gr	32,7 gr
DESPUES DE LA EBULLICIÓN			
PICNÓMETRO	picnómetro + suelo + agua	Peso picnómetro + agua	
A	51,0 gr	45,5 gr	
B	52,7 gr	47,6 gr	

Nota: Resultados metodológicos para la prueba de densidad real del suelo. Adaptado de Domínguez, 2017

Una vez realizados los pesos correspondientes antes y después del proceso de ebullición, se realiza el cálculo de la densidad real a partir de la ecuación de Gómez (2013), la cual se aplicó en las dos repeticiones Picnómetro A ($D_r = 2,216 \text{ gr/cm}^3$) y Picnómetro B ($D_r = 2,014 \text{ gr/cm}^3$); generando un promedio y un valor final correspondiente a una **densidad real de $2,12 \text{ gr/cm}^3$** , es decir una densidad baja. Teniendo en cuenta que los suelos del departamento del Meta tienen una densidad real que oscila entre $2,40$ y $2,70 \text{ gr/cm}^3$, el resultado obtenido es una aproximación cercana a este rango (IGAC, 2004).

4. Densidad Aparente

Los resultados obtenidos se pueden observar en la Tabla 10.

Tabla 10.*Resultados prueba de densidad aparente*

PRUEBA DE DENSIDAD APARENTE			
	Peso terrón normal	Peso del terrón seco	Peso del terrón parafinado
TERRÓN	8,6 gr	4,7 gr	6,1 gr

Nota: Resultados metodológicos para la prueba de densidad aparente del suelo. Adaptado de Domínguez, 2017.

Una vez realizados los pesos correspondientes de pesaje y parafinado, se realiza el cálculo de la densidad aparente a partir de la ecuación tomada de Gómez (2013)(Gómez Giraldo, 2013), obteniendo un valor aproximado de **densidad aparente de $1,37 \text{ gr/cm}^3$** .

5. Porosidad del suelo

Se realizó el cálculo de la porosidad a partir de la ecuación tomada de Gómez (2013) teniendo en cuenta los valores de densidad real y aparente determinados anteriormente. Se obtuvo una **porosidad baja del 35,5%**.

Dado que en el departamento del Meta predominan los suelos de tipo Oxisol, Ultisol e Inceptisol con textura variante Arcillo-Arenoso los poros presentes en estas condiciones son pequeños y estrechos (Microporos); repercutiendo en propiedades edáficas como la aireación, menor capacidad de infiltración del agua y una dificultad para la penetración de las raíces.

6. Materia Orgánica – Humus

A través de pruebas de colorimetría con carta de colores se logró determinar el contenido de materia orgánica (carbón orgánico) en el suelo de estudio; según esto el **contenido de humus es 1 es decir bajo** (Tabla 11), comparando con la carta de colores corresponde a un color amarillo claro debido a que la extracción de humus de color oscuro del suelo por el reactivo fue mínima.

En los suelos presentes en la Orinoquia la materia orgánica es baja y debida a su alta mineralización, y dada esta relación inversa la presencia de materia orgánica en altos porcentajes no es posible; ocasionando deficiencias nutricionales de nitrógeno asimilable por las plantas en el suelo causando afectaciones metabólicas en estas.

7. Contenido de Nitrógeno (N), Fosforo (P) y Potasio (K).

7.1 Prueba de Nitrógeno (N)

El nitrógeno (N) y el azufre (S) son medidos en formas de nitratos ($\text{NO}_3\text{-N}$) y sulfato de azufre ($\text{SO}_4\text{-S}$); y por consiguiente se logró determinar a través de pruebas de colorimetría con carta de colores el contenido de nitratos en el suelo de estudio, a partir de la solución del suelo; según esto el **contenido de Nitrato es 45 Kg/ha** (Tabla 11) **es decir muy bajo**.

El bajo contenido de nitratos en el suelo hace que el nitrógeno asimilable por las plantas sea mínimo, esta falta de nitrógeno se debe a la influencia limitante de otras propiedades

químicas como el pH y el contenido de materia orgánica; teniendo en cuenta el pH obtenido (pH ácido de 5,4) y el contenido de materia orgánica (Bajo), estos influyen en el desarrollo de la actividad microbiana de organismos fijadores de nitrógeno atmosférico y transformadora a nitrógeno orgánico se ve afectada inhibiendo este proceso, disponiendo poco nitrógeno asimilable para las plantas.

De igual manera el bajo contenido de materia orgánica que está en interacción con las arcillas se traduce en deficiencias en la estructuración, aireación, infiltración y penetración radicular; y al tener poco desarrollo radicular no habrá un buen sistema que sirva de soporte y captura de nitrógeno por las raíces de las plantas (Tucker, 1985). (IGAC, 2004).

7.2 Prueba de Fosforo (P)

A través de pruebas de colorimetría con carta de colores se logró determinar el contenido de Fosforo (P) a partir de la solución del suelo; según esto el **contenido de Fosforo es muy bajo con 11,25 kg/ha** (Tabla 11).

Debido al bajo contenido de materia orgánica en el suelo de estudio, se asimila por esto el bajo contenido de fosforo al ser esta un limitante en su contenido, ya que el fosforo deriva de la descomposición de la materia orgánica; de igual manera en suelos arcillosos del departamento del Meta se espera encontrar bajos niveles de fosforo debido a la alta fijación de este por parte de minerales como el hierro y el aluminio. Adicional a esto en pH bajos (Ácidos), la disponibilidad de fosforo disminuye gradualmente.

7.3 Prueba de Potasio (K)

Se determinó a través de una prueba de colorimetría con una placa de lectura visual el contenido de Potasio en el suelo de estudio, a partir de la muestra de extracción general del suelo; según esto el **contenido de Potasio es bajo con 247,5 Kg/ha** (Tabla 11).

Los suelos con pH ácidos y bajo nivel de materia orgánica son un limitante severo que restringe la disponibilidad adecuada de macronutrientes necesarios para el desarrollo metabólico adecuado de las plantas; y bases intercambiables como el Potasio están en baja cantidad.

En la Tabla 11 se puede observar en conjunto los resultados anteriores de las pruebas fisicoquímicas preliminares del suelo.

Tabla 11.

Conglomerado de los resultados del análisis preliminar del suelo.

ANÁLISIS EDAFOLOGICO FISICOQUIMICO PRELIMINAR		
PRUEBA	VALOR	UNIDAD
Nitrato de Nitrógeno (N)	45	Kg/ha
pH	Rango amplio	Ligeramente ácido
	Rango estrecho	
Humus	1	Bajo- Suelo de agricultura
Fosforo (P)	11,25	Kg/ha
Potasio (K)	247,5	Kg/ha

Nota: Resultados de los parámetros químicos preliminares del suelo. Adaptado de Domínguez, 2107.

Resultados Edafológicos y Foliareos posterior a los Bioensayos

Después de realizar las pruebas de laboratorio y análisis a las condiciones iniciales del suelo teniendo así un referente de comparación previo a los bioensayos y un periodo de adaptabilidad de las platas de 52 días, se da inicio a la fase de contaminación el día 23 de Noviembre del 2017.

Sin embargo tras haber hecho pruebas de germinación de la mostaza amarilla (*Sinapis alba*) (Figura 9) se presentó un crecimiento exponencial de plántulas satisfactorio en la primera semana en el germinador alcanzando un tamaño de 6 cm, después de 25 días de realizar un trasplante y siembra de nuevas semillas en el suelo de estudio, las plántulas comenzaron a presentar mortandad (Figura 10).



Figura 9. Semillero de prueba de germinación en la especie *Sinapis alba*. Adaptado de Domínguez, 2017.



Figura 10. Plántulas de *Sinapis alba* previas a presentar mortandad. Adaptado de Domínguez, 2017.

A pesar de ser esta una especie con un buen desarrollo en las condiciones edáficas de la Orinoquia, la pérdida (mortandad) de estas especies se debió al periodo de siembra, que fue entre los meses de Octubre y Noviembre, temporada en la cual régimen de precipitación es alto (temporada de lluvia) y varía entre 350 - 400 mm de precipitación mensual; superando así los requerimientos hídricos de la especie, al no tener la respuesta satisfactoria por parte de la mostaza amarilla (*S. alba*) esta no se tiene en cuenta en las evaluaciones ni resultados del proyecto.

Por consiguiente los bioensayos se desarrollaron únicamente en las especies *H. psittacorum* y *C. esculenta* ya que fueron las que superaron el periodo de adaptabilidad. Para definir la sensibilidad de las especies al contaminante, se emplearon las siguientes concentraciones: 0.6; 1.5; 2.5; 5 y 10 mg/l; siendo el método de suministro del metal mediante una disolución del Oxido de mercurio en el agua de riego con una aplicabilidad de 125 ml para cada concentración en cada especie cada Jueves durante 50 días (23 Noviembre 2017 hasta el 11 Enero 2018), es decir 8 riegos.

Finalizado este primer periodo de contaminación se tomaron muestras foliares (Anexo 2) y edafológicas donde se realizó una muestra compuesta de suelo por cada especie y dosificación usada para las pruebas de laboratorio de suelo se analizaron cuatro parámetros nuevamente; el contenido de Nitrógeno (N), Fosforo (P) y Potasio (K), y el pH, arrojando los siguientes resultados (Tabla 12).

Tabla 12.*Resultados Edafológicos posterior a los Bioensayos*

Evaluación del progreso posterior a los Bioensayos						
	Concentración	N	P	K	pH	
		Kg/ha				
<i>Heliconia Psittacorum</i>	0,6 mg/L	11,25	11,25	135	5 - 5,2	Fuertemente ácido
	1,5 mg/L	11,25	11,25	135	5 - 5,4	Moderadamente ácido
	2,5 mg/L	22,5	11,25	135	5 - 5,4	Moderadamente ácido
	5,0 mg/L	11,25	11,25	225	6 - 6,2	Ligeramente ácido
	10 mg/L	11,25	11,25	225	6 - 6,2	Ligeramente ácido
<i>Colocasia Esculenta</i>	0,6 mg/L	22,5	28,12	135	5 - 5,2	Fuertemente ácido
	1,5 mg/L	11,25	28,12	225	6 - 6,2	Ligeramente ácido
	2,5 mg/L	11,25	22,5	112,5	4 - 4,6	Fuertemente ácido
	5,0 mg/L	11,25	11,25	225	6 - 6,2	Ligeramente ácido
	10 mg/L	11,25	11,25	135	5 - 5,4	Moderadamente ácido

Nota: Resultados posteriores a los bioensayos de los parámetros químicos edafológicos para ambas especies de estudio. Adaptado de Domínguez, 2018.

Teniendo presente que el suelo actúa como una barrera protectora filtrando, descomponiendo, neutralizando o almacenando contaminantes evitando así la disponibilidad de estos en los organismos; esta capacidad depuradora depende de los contenidos en materia orgánica, carbonatos, oxihidróxidos de hierro y manganeso, así como el tipo de minerales de la arcilla, la capacidad de cambio catiónico del suelo, el pH y Eh (Potencial de óxido-reducción), textura, permeabilidad y actividad Microbiana. (Madera et al., 2014). Por consiguiente cuando estas propiedades del suelo se ven afectadas favorecen la movilidad del contaminante, este pasa a estar disponible, y si es en cantidades toxicas se llama carga crítica y marca el umbral de toxicidad.

Según los resultados de los análisis de suelo obtenidos, el rango de pH varía en mayor porcentaje entre 5,2–5,4 es decir entre fuertemente y ligeramente ácido, siendo este un pH favorable para la disponibilidad y movilidad de metales pesados como el Mercurio (Hg). Al presentar mayor movilidad puede ser absorbido por las plantas en su sistema radicular.

No obstante la textura presente en estos suelos de estudio es Arcillo-Arenoso (ArA) y la porosidad presente (Tabla 8), hay balance entre movilidad y retención del contaminante; puesto que la arcilla puede adsorber los metales pesados dado su porosidad. Por consiguiente la

movilidad del contaminante puede ser entre las raíces de la planta y quedar allí retenido o puede ser absorbido hasta el área foliar.

Con relación al contenido de materia orgánica esta aporta macronutrientes esenciales como Nitrógeno, fósforo y Potasio (N, P, K); y facilita o no la movilidad de los metales en el suelo.

Dado que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio y quelatos, pudiendo migrar con mayor facilidad a lo largo del perfil (García & Dorronsoro, 2013).

El bajo nivel de materia orgánica en el suelo influyó directamente en el porcentaje de disponibilidad de los nutrientes (N, P, K) y por ende su mayor disponibilidad de absorción para las plantas.

En torno al comportamiento del Mercurio en el suelo, el nivel de contaminación debe ser estimado teniendo en cuenta la posible asimilación por los organismos del suelo del contaminante, la cual se determina por la competencia entre el sistema radicular de la planta, la solución del suelo y la fase sólida del suelo. Esta biodisponibilidad se puede ver reflejada en las especies vegetales en su comportamiento, es decir en su crecimiento, desarrollo reproductivo, sistema radicular, en su follaje o en sus tallos, como se evidencio en las especies Heliconia y Colocasia, que presentaron coloración (Anexo 2), disminución de crecimiento, afectación en plántulas nuevas y en el sistema radicular.

Analizando en primera estancia a la especie Heliconia y los cambios presentados frente a los bioensayos, se manifestaron cambios de color (clorofila) en algunos individuos disminuyendo su tonalidad verde natural (Figura 13), aparición de manchas amarillentas y algunas marrones en forma circular (moteado) en el haz de la hoja (Anexo 2), marchitamiento del ápice en algunos individuos, daños del borde hacía el interior de la hoja con cambios de color de marrón a amarillo hasta el marchitamiento (Figura 14), manchas amarillas y marrones en los nuevos brotes o plántulas (Figura 16), disminución o límite en el tamaño alcanzado (crecimiento) por las plantas en comparación con los individuos piloto; y en las concentraciones más altas un desarrollo radicular menor en comparación al individuo piloto (Figura 11).

En cuanto a la especie *Colocasia* se manifestó aparición de manchas (moteado) de color morado oscuro, purpuras rojizas y fuxias con centros marrones en el haz de las hojas predominando su cercanía al borde (Anexo 2), daño en el ápice de algunos individuos; en la concentración más alta (10 mg/L) se evidencio la presencia de una mancha marrón rojiza de mayor tamaño del borde hacia el centro de la hoja que redujo la aparición en su totalidad de la tonalidad natural (morado oscuro) de la hoja (Anexo 2); respecto al crecimiento hubo poco y lento crecimiento de nuevos plántulas en las concentraciones más altas (Figura 17), una disminución o limite en el tamaño alcanzado por las plantas en comparación con los individuos piloto, debilitamiento en los tallos presentando un curvamiento en los individuos (Figura 17); y finalmente al igual que en las *Heliconias*, en las concentraciones más altas un desarrollo radicular menor en comparación al individuo piloto (Figura 11).

La fitotoxicidad por metales pesados en este caso oxido de mercurio en las plantas, se manifiesta de manera más visible con cambios fenológicos y metabólicos en cuanto al color, tamaño y crecimiento de las plantas, debido a la falta de los macronutrientes esenciales como los son el Nitrógeno, Fosforo y Potasio (Barceló & Poschenrieder, 1992); al presentar una disminución del porcentaje disponible de estos en el suelo drásticamente (Tabla 12) en comparación a las condiciones iniciales (Tabla 11); según los resultados el Nitrógeno disminuyo en un 25 % (de 45 Kg/ha a 11,25 Kg/ha) y el Potasio en la gran mayoría en un 54.5% (de 247,5 Kg/ha a 135 Kg/ha), sin embargo el Fosforo se mantuvo estable (Tabla 12).



Figura 11. Daño radicular en las especies de estudio. Adaptado de Domínguez, 2018.

Dado que el mercurio afecta el sistema radicular reduciendo el índice mitótico en el meristemo apical de la raíz, no habrá un crecimiento adecuado de un sistema radicular que permita la adsorción y transporte de nutrientes; en especial del ión de potasio (K^+), llevando a los compuestos mercuriales a afectar las funciones en que participan proteínas sin protección dando así una sustitución de un ión esencial como él (K^+).

Esto debido a que el mercurio interfiere con los sistemas disulfúros en las células, causando la formación de puentes de mercurio y sulfuros, por lo que los cationes de mercurio tienen una alta afinidad por los grupos sulfhídricos y adicional a esto casi todas las proteínas tienen grupos o puentes disulfúros (Taiz, Zeiger, & Publicacions., 2006).

La respuesta de las plantas al contacto con el metal también depende del ensayo de toxicidad, es decir la concentración y el tiempo de exposición; los bioensayos aplicados a los individuos en estudio son de toxicidad crónica que provoca cambios durante un largo periodo de exposición continua. Como se observa en la (Figura 12) al haber una concentración alta y una exposición larga, los daños principales son en la raíz y efectos foliares directos e indirectos.

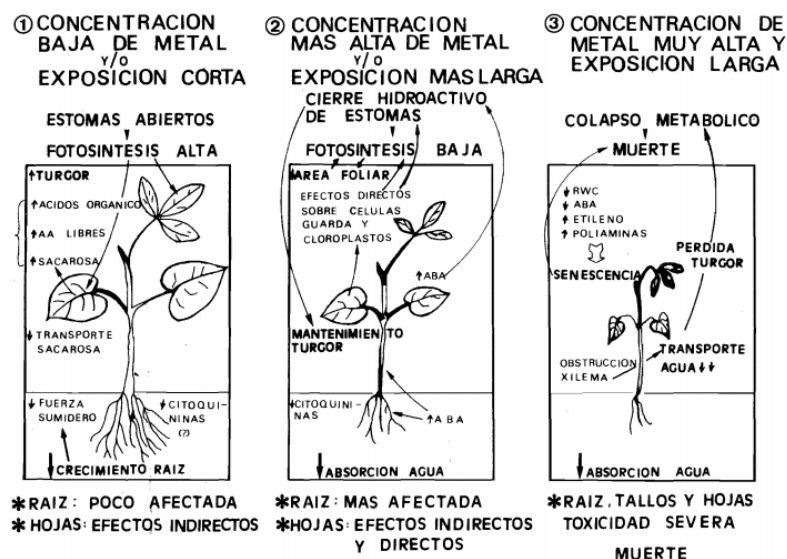


Figura 12. Respuesta cualitativa de las plantas en función de la concentración y tiempo de exposición al metal. Adaptado de “Taiz et al., 2006”; por Domínguez, 2018.

En las especies *Heliconia* y *Colocasia* dichos efectos directos e indirectos se manifestaron con la presencia de manchas amarillas grandes o tenues en el haz de las hojas de algunos individuos que evidencian la falta de Nitrógeno (N) (Figura 13) (Figura 14). Dado que a menor

porcentaje de Nitrógeno en el suelo se detiene o disminuye el crecimiento de sus órganos, lo que propicia una proteólisis que moviliza el N existente y propicia la muerte de algunos órganos y tejidos; un cambio de tonalidad en el verde natural de las hojas, especialmente en las más viejas cerca a la base de la planta, así una planta con carencia de nitrógeno puede tener un verde brillante en hojas superiores y un color amarillo en las hojas inferiores (Taiz et al., 2006).



Figura 13. Cambio en la clorofila - Deficiencia de Nitrógeno en las hojas de *H. psittacorum*. Adaptado de Domínguez, 2018.



Figura 14. Marchitamiento y cambio de color del borde hacia en centro de las hojas. Adaptado de Domínguez, 2018.

El fósforo (P) es un elemento importante en el almacenamiento de energía e integridad estructural para un crecimiento robusto de la planta y de las células, fomenta el desarrollo de raíz, estimula la formación de grasas y almidones, aumenta la resistencia a enfermedades y favorece a la floración síntoma que se manifestó negativamente en la especie *Heliconia* en los individuos de concentraciones medias de 1,5 y 2,5 mg/l donde el desarrollo de las flores disminuyó en comparación a las piloto (Figura 15); hay un crecimiento débil de las plantas jóvenes como se observó en las *Heliconias* (Figura 16), con coloración verde oscura y pequeñas manchas marrones de tejido muerto. De igual manera se forman coloraciones purpuras en las

hojas que no están asociadas a la clorosis mencionada anteriormente, este tipo de moteado se manifestó en la especie *Colocasia* (Anexo 2); otro síntoma es la producción de tallos más finos y débiles con tendencia al curvamiento, junto con la muerte de las hojas más viejas (síntoma presentado en mayor proporción por la especie *Colocasia* (figura 17)

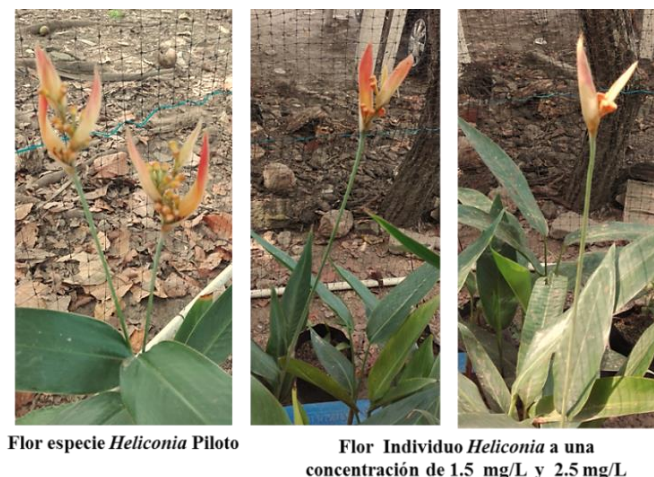


Figura 15. Desarrollo de flor en la especie *Heliconia psittacorum*. Adaptado de Domínguez, 2018.



Figura 16. Crecimiento débil de las plántulas de *H. Psittacorum* por deficiencia de Fosforo (P). Adaptado de Domínguez, 2018.

Finalmente el Potasio (K) es un nutriente mineral que permanece en forma iónica como catión (K^+) y es el encargado de regular el potencial osmótico de las células vegetales y activador de muchas enzimas implicadas en la respiración y la fotosíntesis (Taiz et al., 2006).

El primer síntoma observable de carencia de potasio (K), es la presencia de un moteado o clorosis marginal parcial, síntoma manifestado por ambas especies en colores diferentes (amarillos, morados y fuxias) (Anexo2); que produce una necrosis que se desarrolla primero en el borde de la hoja que se presenta en las hojas ya maduras y algunas ocasiones produce curvado en las hojas de la planta, y retraso en el crecimiento de individuos (Figura 17).

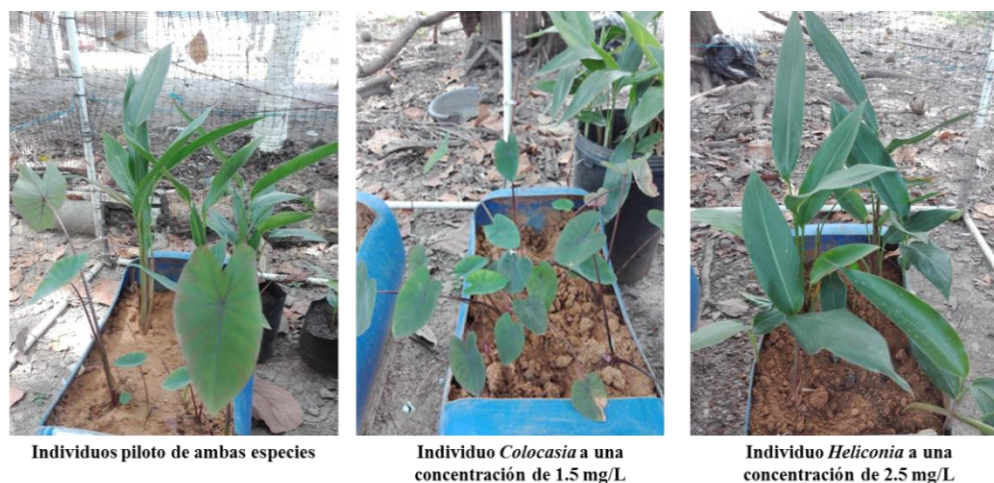


Figura 17. Desarrollo débil y lento en los individuos de ambas especies. Adaptado de Domínguez, 2018.

Partiendo de los resultados obtenidos en el análisis de suelo y de ambas especies vegetales, la manifestación por contaminación, adsorción o retención de óxido de mercurio en las plantas se vio reflejado en la disminución de nutrientes disponibles y por ende metabolizados en el sistema de los individuos, presentándose con cambios en la coloratura, crecimiento, desarrollo y demás síntomas mencionados anteriormente; debido a la disminución en el desarrollo radicular de las especies que se vio afectado por el óxido de mercurio.

Análisis estadístico del daño foliar para las especies en estudio

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se realiza el análisis estadístico correspondiente para la corroboración de los mismos; por consiguiente el análisis estadístico aplicado a los resultados se determinó con base en la normalidad de los datos, los datos obtenidos una distribución muestral no normal se utilizó en primera instancia el método del *coeficiente de correlación de Spearman*; con el cual se evaluaron las correlaciones entre el daño foliar y los diferentes tratamientos aplicados en ambas especies vegetales; primero se desarrolló una comparación de

bloques, con las especies evaluadas (Heliconias, Colocasias) (Tabla 13) con el fin de identificar si la influencia del contaminante sobre el sistema foliar es la misma en ambas especies y de esta forma, responder a la hipótesis planteadas.

Análisis de comparación entre bloques de las especies evaluadas

Tabla 13.

Coefficiente de correlación de Spearman entre bloques H. psittacorum Vs C. esculenta

			Porcentaje de daño foliar M2_R1	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Porcentaje de daño foliar M2_R3
Rho de Spearman	Porcentaje de daño foliar M2_R1	Coefficiente de correlación	1,000	,298	,074
		Sig. (bilateral)	.	,347	,820
		N	12	12	12
	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Coefficiente de correlación	,298	1,000	-,242
		Sig. (bilateral)	,347	.	,449
		N	12	12	12
	Porcentaje de daño foliar M2_R3	Coefficiente de correlación	,074	-,242	1,000
		Sig. (bilateral)	,820	,449	.
		N	12	12	12

Nota: M2_R1= Muestreo dos (2) Replica uno (1), R2= Replica dos (2), R3= Replica tres (3).
Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

En la Tabla 13 se puede observar un daño foliar M2_R1 en comparación con el daño foliar del M2_R2 para las especies en estudio existe una correlación de 0,298 es decir una correlación directa con una relación de nivel baja, lo que indica que al aumentar la variable independiente en este caso las concentraciones de HgO, el daño foliar también aumenta en ambas especies entre la réplica uno y la réplica dos; para el caso entre el porcentaje de daño foliar M2_R1 en comparación con el porcentaje de daño foliar del M2_R3 existe una correlación de 0,074 de dirección directa y de nivel mínimo, significa que a pesar de tener un cambio en el daño foliar con el aumento de las concentraciones en ambas especies, la varianza entre una réplica y otra es mínima menos significativa; y para el porcentaje de daño foliar M2_R2 en comparación con el porcentaje de daño foliar del M2_R3 se presenta una correlación inversa de -0,242 con un nivel bajo, al ser inversa infiere en que a mayor concentración de HgO el daño foliar será menor entre algunas de las réplicas dos (2) y tres (3) de ambas especies.

En cuanto a la significancia de relación entre los valores del bloque, todas dieron $>0,05$, siendo más cercanas al rango las de nivel de correlación bajo, es decir no hay significancia de

relación entre todos los datos de daño foliar de ambas especies; y retomando las hipótesis planteadas, se rechaza la H_1 y se acepta la H_0 , con lo cual se confirma la hipótesis de que las diferentes concentraciones de HgO afectan en diferente proporción a cada especie.

Con base en esto se procedió a hacer un análisis de bloques completos al azar es decir para cada especie por separado a través del mismo modelo estadístico del *coeficiente de correlación de spearman*, con el fin de identificar la influencia del contaminante sobre el sistema foliar de cada especie en particular, y de esta forma responder a la hipótesis planteadas; y determinar así que especie presenta mayor daño foliar y por ende mayor nivel bioindicador.

Análisis de bloques completos al azar para la especie *Colocasia esculenta*

Como se puede observar para la especie *colocasia* (Tabla 14) para un porcentaje de daño foliar M2_R1 en comparación con el porcentaje de daño foliar del M2_R2 existe una correlación de -0,143 es decir una correlación inversa con una relación de nivel mínima, lo que quiere decir que al aumentar la variable independiente en este caso las concentraciones de HgO, el daño foliar disminuye entre la réplica dos (2) y la réplica uno (1); según el Anexo 1 se puede confirmar como el daño foliar disminuye entre la réplica uno y dos, es decir no todas las hojas presentaban el mismo daño a la misma concentración en diferentes réplicas. Para el caso entre el porcentaje de daño foliar M2_R1 entre porcentaje de daño foliar M2_R3 existe una correlación de 0,143 es decir una correlación directa con una relación de nivel mínima, a diferencia del anterior en esta ambas replicas aumentan el porcentaje de daño foliar al aumentar algunas concentraciones; y para la correlación de varianza entre el porcentaje de daño M2_R2 y el porcentaje de daño M2_R3 es de nivel adecuado con -0,714 que al ser inversa infiere que al aumentar las concentraciones de HgO, el daño foliar disminuye en algunas concentraciones entre la réplica dos (2) y la réplica tres (3).

Tabla 14.*Coeficiente de correlación de Spearman especie Colocasia esculenta*

			Porcentaje de daño foliar M2_R1	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Porcentaje de daño foliar M2_R3
Rho de Spearman	Porcentaje de daño foliar M2_R1	Coeficiente de correlación	1,000	-,143	,143
		Sig. (bilateral)	.	,787	,787
		N	6	6	6
	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Coeficiente de correlación	-,143	1,000	-,714
		Sig. (bilateral)	,787	.	,111
		N	6	6	6
	Porcentaje de daño foliar M2_R3	Coeficiente de correlación	,143	-,714	1,000
		Sig. (bilateral)	,787	,111	.
		N	6	6	6

Nota: M2_R1= Muestreo dos (2) Replica uno (1), R2= Replica dos (2), R3= Replica tres (3).

Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

Sin embargo solo se presenta en un caso una correlación con un nivel bueno entre la réplica dos (2) y tres (3) para algunas concentraciones; y sumado a esto el grado de significancia entre los valores analizados de la especie *colocasia* es mínimo, es no significativo ya que $p > 0,05$, como se observa en la Tabla 14 el nivel de significancia esta entre 0,787 y 0,111 esta última más baja más cercana a cero respecto a la otra; y a pesar de tener una correlación buena en un caso pero al comparar los datos en bloque no hay significancia, es decir no hay significancia de relación entre todos los datos de daño foliar en las tres replicas para *Colocasia* en cada concentración; y retomando las hipótesis planteadas se rechaza la H_1 y se acepta la H_0 , se afirma la hipótesis de que para la *colocasia* el daño foliar es mayor o menor en diferentes replicas para las diferentes concentraciones sin importar la concentración.

Análisis de bloques completos al azar para la especie *Heliconia psittacorum*

Finalmente para concluir el análisis foliar a través del modelo estadístico del *coeficiente de correlación de spearman* se realizó el análisis correlacional de varianza por bloques completos al azar para la especie *heliconia* (Tabla 15), para identificar de igual manera el comportamiento del daño foliar en función de los tratamientos.

Tabla 15.*Coeficiente de correlación de Spearman especie Heliconia psittacorum*

			Porcentaje de daño foliar M2_R1	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Porcentaje de daño foliar M2_R3
Rho de Spearman	Porcentaje de daño foliar M2_R1	Coeficiente de correlación	1,000	,657	-,200
		Sig. (bilateral)	.	,156	,704
		N	6	6	6
	Porcentaje de daño foliar M2_R2	Coeficiente de correlación	,657	1,000	-,029
		Sig. (bilateral)	,156	.	,957
		N	6	6	6
	Porcentaje de daño foliar M2_R3	Coeficiente de correlación	-,200	-,029	1,000
		Sig. (bilateral)	,704	,957	.
		N	6	6	6

Nota: M2_R1= Muestreo dos (2) Replica uno (1), R2= Replica dos (2), R3= Replica tres (3).
Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

Según los resultados, la Correlación del porcentaje de daño foliar M2_R1 y el porcentaje de daño foliar M2_R2 es una relación directa de nivel bueno de 0,657 muy cercano a la correlación perfecta de 1, el ser directa infiere en que al aumentar las concentraciones de HgO el daño foliar también aumentara en las réplicas; igualmente posee un nivel de significancia de 0,156 que a pesar de no presentar significancia, en comparación con los demás es la más baja cercana a cero; a diferencia de la correlación que presenta el porcentaje de daño M2_R3 que tiene un nivel bajo y relación inversa de -0,200 indicando una disminución del daño foliar en las réplicas para los tratamientos; y finalmente la correlación evidenciada entre el porcentaje de daño foliar M2_R2 y daño foliar M2_R3 de nivel bajo con dirección inversa de -0,29 indicando una disminución del daño foliar entre las réplicas dos y tres en algunas concentraciones.

Teniendo en cuenta los niveles de significancia para las variables daño foliar en la especie *Heliconia* y retomando las hipótesis planteadas se acepta la hipótesis nula H_0 y rechaza la alterna H_1 ; sin embargo al presentarse una correlación de dirección directa y con nivel bueno entre las réplicas uno y dos para los tratamientos se podría afirmar que en cierto porcentaje si se ve afectada el área foliar de la especie a concentraciones más altas; y contrastando con los resultados cualitativos anteriormente mencionados, la especie *heliconia* manifiesta un mayor progreso, adaptabilidad y tolerancia hacia estos cambios, que si bien limitan y disminuyen su desarrollo normal, puede sobrevivir a estas circunstancias a mayores concentraciones del contaminante en comparación a la especie *Colocasia* que presenta disminución mayor en el número de nuevas plántulas y más mortandad de individuos viejos.

Análisis estadístico de los parámetros edafológicos

Finalmente como se presentó cualitativamente una disminución en los niveles de disponibilidad en el suelo de los macronutrientes requeridos por las plantas para su metabolismo como Nitrógeno, Fosforo y Potasio, y de igual forma el pH del suelo; se realizó una comparación de medias a través de la prueba *T-student para muestras relacionadas* para corroborar esta disminución estadísticamente; prueba en la cual se evaluaron las variaciones entre los niveles de Nitrógeno, Fosforo, Potasio y pH en el suelo, pre-tratamiento y pos-tratamiento en función de los diferentes tratamientos aplicados en ambas especies vegetales, y de esta forma responder a las hipótesis planteadas para la prueba *T-student*.

Análisis T-student de muestras relacionadas para la especie *Colocasia esculenta*

En primer lugar se realizó la prueba *T-student para muestras relacionadas* para la especie *Colocasia* arrojando los siguientes resultados como se observa en la Tabla 16 y 17.

Tabla 16.

Estadísticos de muestras relacionadas para la especie Colocasia esculenta

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Nitrogeno Pretratamiento	40,0000	5	,00000	,00000
	Nitrogeno Postratamiento	12,0000	5	4,47214	2,00000
Par 2	Fosforo Pretratamiento	10,0000	5	,00000	,00000
	Fosforo Postratamiento	18,0000	5	7,58288	3,39116
Par 3	Potasio Pretratameinto	220,0000	5	,00000	,00000
	Potasio Postratamiento	148,0000	5	48,16638	21,54066
Par 4	pH Pretratamiento	5,4000	5	,00000	,00000
	pH Postratamiento	5,5200	5	,68702	,30725

Nota: Resultados estadísticos de la variabilidad de la media para los parámetros edafológicos medidos. Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

Tabla 17.

Resultados prueba de medias relacionadas para la especie Colocasia esculenta

		Diferencias relacionadas				t	gl	Sig. (bilateral)	
		Media	Desviación tip.	Error tp. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior				Superior
Par 1	Nitrogeno Pretratamiento - Nitrogeno Postratamiento	28,00000	4,47214	2,00000	22,44711	33,55289	14,000	4	,000
Par 2	Fosforo Pretratamiento - Fosforo Postratamiento	-8,00000	7,58288	3,39116	-17,41538	1,41538	-2,359	4	,078
Par 3	Potasio Pretratameinto - Potasio Postratamiento	72,00000	48,16638	21,54066	12,19354	131,80646	3,343	4	,029
Par 4	pH Pretratamiento - pH Postratamiento	-,12000	,68702	,30725	-,97305	,73305	-,391	4	,716

Nota: Resultados estadísticos de la variabilidad de la media para los parámetros edafológicos medidos. Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

En la Tabla 16 de los estadísticos descriptivos se presentan las medias (valores promedio) para cada variable antes y después de los tratamientos para la especie en estudio, viendo en primera estancia la presencia de variabilidad y disminución en el contenido de los nutrientes y pH en el suelo; sin embargo comparando los resultados de la Tabla 17 en cuanto al nivel de significancia para las variables, solo hay significancia para Nitrógeno y Potasio; para Nitrógeno hay una significancia de 0,0 es decir una asociación entre la variable y los tratamientos indicando una disminución del contenido de este en el suelo al aumentar las concentraciones de HgO, al haber significancia y retomando las hipótesis planteadas para los niveles de nutrientes, se rechaza la hipótesis nula H_0 y se acepta la hipótesis alterna propuesta por el investigador H_1 , pudiendo determinar que en promedio el contenido de nitrógeno es menor posterior a los bioensayos (pos-tratamiento) debido a la presencia del HgO en el suelo; al haber deficiencia de Nitrógeno en el suelo se podría afirmar que también en la planta, ya que no hay disponibilidad suficiente del nutriente; manifestando este déficit en la aparición de manchas rojizas moradas y fuxias en las hojas como ya se mencionó anteriormente.

Igualmente para el Potasio cuya significancia bilateral es de 0,029 indicando que el valor promedio de potasio posterior a los bioensayos es estadísticamente menor al valor inicial previo a los bioensayos, esto de acuerdo al análisis del valor $p < 0,05$ se debe aceptar la hipótesis alterna propuesta por el investigador H_1 .

Para el caso del Fosforo cuya significancia es de 0,078 se puede deducir que no hay significancia y que al ser el valor $p > 0,05$ estadísticamente se acepta la hipótesis nula H_0 y se rechaza la hipótesis alterna H_1 , esto quiere decir que el contenido de Fosforo en el suelo tuvo variabilidad pero no probablemente en relación a los tratamientos; como se mencionó anteriormente el contenido de este nutriente y otros están directamente relacionados con el contenido de materia orgánica presente en el suelo esta es la que limita en cierto grado la presencia o no de Fósforo; puede que las concentraciones de HgO no hayan afectado directamente los niveles de fósforo pero si de degradación de materia orgánica, ya que los niveles de Fosforo en las concentraciones más altas se mantuvo constante (Tabla 12) y aumento en las más bajas en cierta proporción.

Igualmente para el pH, el cual si presenta variabilidad en los diferentes tratamientos pero al ser comparados con los demás datos no presenta significancia según lo observado en la **Tabla 17**, ya que el pH presento una significancia 0,716, por lo que se puede deducir que no hay significancia y que al ser el valor $p > 0,05$ estadísticamente se acepta la hipótesis nula H_0 y se rechaza la hipótesis alterna H_1

Análisis T-student de muestras relacionadas para la especie *Heliconia psittacorum*

Por último se realizó la prueba *T-student para muestras relacionadas* para la especie *Heliconia* arrojando los resultados observados en la Tabla 18 y 19.

Tabla 18.

Estadísticos de muestras relacionadas para la especie Colocasia esculenta

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	Nitrogeno Pretratamiento	40,0000	5	,00000	,00000
	Nitrogeno Postratamiento	12,0000	5	4,47214	2,00000
Par 2	Fosforo Pretratamiento	10,0000 ^a	5	,00000	,00000
	Fosforo Postratamiento	10,0000 ^a	5	,00000	,00000
Par 3	Potasio Pretratamiento	220,0000	5	,00000	,00000
	Potasio Postratamiento	152,0000	5	43,81780	19,59592
Par 4	pH Pretratamiento	5,4000	5	,00000	,00000
	pH Postratamiento	5,6800	5	,48166	,21541

Nota: Resultados estadísticos de la variabilidad de la media para los parámetros edafológicos medidos. Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

Tabla 19.

Resultados prueba de medias relacionadas para la especie Heliconia psittacorum

		Diferencias relacionadas				t	gl	Sig. (bilateral)	
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
					Inferior				Superior
Par 1	Nitrogeno Pretratamiento - Nitrogeno Postratamiento	28,00000	4,47214	2,00000	22,44711	33,55289	14,000	4	,000
Par 3	Potasio Pretratamiento - Potasio Postratamiento	68,00000	43,81780	19,59592	13,59301	122,40699	3,470	4	,026
Par 4	pH Pretratamiento - pH Postratamiento	-.28000	,48166	,21541	-.87806	,31806	-1,300	4	,263

Nota: Resultados estadísticos de la variabilidad de la media para los parámetros edafológicos medidos. Adaptado de “Software IBM SPSS Statistics”; por Domínguez, 2018.

En la Tabla 18 de los estadísticos descriptivos se presentan las medias (valores promedio) para cada variable antes y después de los tratamientos para la especie en estudio al igual que con los resultados de las Colocasias, sin embargo para el caso del Fosforo en las Heliconias al ser un

valor constante y no presentar variabilidad después de los tratamientos, no se calcula la T's por eso el error típico de la media es cero, al ser este una constante.

Teniendo en cuenta el nivel de significancia para las variables Tabla 19 se refleja de igual forma una significancia representativa solo para Nitrógeno y Potasio; teniendo el Nitrógeno una significancia de 0,0 es decir una asociación entre la variable y los tratamientos indicando una disminución del contenido de este en el suelo al aumentar las concentraciones de HgO, al haber significancia y retomando las hipótesis planteadas para la disponibilidad de nutrientes antes y después de los bioensayos, se rechaza la hipótesis nula H_0 y se acepta la hipótesis alterna propuesta por el investigador H_1 , pudiendo determinar que en promedio el contenido de nitrógeno es menor posterior a los bioensayos. Igualmente, para el Potasio, cuya significancia bilateral es de 0,026 indica que el valor promedio de Potasio posterior a los bioensayos es estadísticamente menor al valor inicial previo a estos; teniendo en cuenta esto, y de acuerdo al análisis del valor $p < 0,05$ se debe aceptar la hipótesis alterna propuesta por el investigador H_1 .

Y por último el pH presenta variabilidad en los diferentes tratamientos pero al ser comprados con los demás datos no presenta significancia según lo observado en la **Tabla 19**, ya que el pH presento una significancia 0,217; se puede deducir que no hay significancia dado que el valor $p > 0,05$; por ello estadísticamente se acepta la hipótesis nula H_0 y se rechaza la hipótesis alterna H_1 .

Discusión

Según los resultados obtenidos en el análisis de variabilidad fenológica de cada especie respecto a los diferentes tratamientos de HgO, ambas especies presentaron moteados de colores y cambios en la clorofila del haz de las hojas; sin embargo cada especie manifestó algunos efectos diferentes frente a la presencia de óxido de mercurio de diferente manera; en primer lugar las *heliconias* presentaron en un mayor porcentaje el daño foliar directamente proporcional a las concentraciones, es decir a mayor concentración de HgO mayor fue el daño foliar según las réplicas de muestreo tomadas; y daño en nuevas plántulas.

Estos primeros daños foliares de moteado parcial o general en la haz de las hojas y de crecimiento, se debe a la deficiencia de nitrógeno en el suelo disponible para las plantas. De igual manera en el seguimiento de crecimiento y desarrollo metabólico de las especies, se presentó disminución en el tamaño alcanzado por la planta y poco desarrollo radicular; esto debido a la deficiencia de Fosforo.

Sin embargo no solo la falta de fosforo propicio el débil desarrollo radicular, el óxido de mercurio afectó principalmente al sistema radicular al ser este el primer tejido que entra en contacto constata con él. Este daño radicular se dio debido a la reducción en el índice mitótico en el meristemo apical de la raíz, aumentando la frecuencia de aberraciones cromosómicas, que son directamente proporcionales a la concentración de Hg (Taiz et al., 2006), es decir entre más concentración más daño en la raíz, disminuyendo su desarrollo, tamaño o ramificación.

Sin embargo la especie *Heliconia* manifiesta un mayor progreso, adaptabilidad y tolerancia hacia estos cambios, que si bien limitan y disminuyen su desarrollo normal, puede sobrevivir a circunstancias de mayores concentraciones de Oxido de Mercurio en comparación a la especie *Colocasia*.

Según un estudio realizado por Madera (2014) para análisis de clorofila en las especies *heliconia* y *colocasia*, siendo la respuesta fisiológica de crecimiento y desarrollo frente al efecto de concentración de metales pesados entre ambas especies es mayor en las *Heliconias*, que fue la

especie que mostro una mejor distribución de los metales en sus tejidos, dado que presento mejores mecanismos de defensa como una mayor producción de enzimas antioxidantes, inmovilización de los iones tóxicos en la pared celular, formación de compuestos con ácidos orgánicos e inorgánicos y adaptación a condiciones de contaminación.

En cuanto a la afectación de las propiedades químicas del suelo a causa de la presencia de óxido de mercurio en el suelo; a través de la investigación se permitió reconocer la disminución en la disponibilidad de Nitrógeno y Potasio en el suelo para las plantas, causando daños metabólicos en las plantas ya mencionados anteriormente.

Al igual que una variabilidad en el pH en algunas concentraciones, favoreciendo la biodisponibilidad del metal pesado en estudio. Según un estudio realizado por Roqueme (2014) frente a la presencia de metales pesados; los suelos que presentan un $\text{pH} < 7$ ayuda a la movilidad de los metales pesados en el suelo; y un $\text{pH} > 7$ generar adsorción de metales; ya que son removidos de la solución suelo, adsorbidos por los coloides del mismo, disminuyendo su biodisponibilidad.

Concluyendo así que la especie *Heliconia* se adapta mejor a condiciones extremas a mayores concentraciones (entre 5 y 10 mg/L), y que a pesar de que presenta daño se adecúa al cambio. Y la *Colocasia* es mejor bioindicadora a concentraciones más bajas (entre 0,6 y 2,5 mg/L), presentando disminución drástica de individuos o mortandad a concentraciones más altas (5 y 10 mg/L).

Conclusiones

Las condiciones edafológicas en estudio evaluadas en un escenario controlado por lisímetros, se vieron afectadas directamente frente a la presencia del óxido de mercurio, disminuyendo los niveles disponibles de nutrientes esenciales para los organismos como el Nitrógeno y Potasio, los cuales disminuyeron hasta en un 25% y 50% respectivamente. Sin embargo las condiciones iniciales naturales del suelo de la Orinoquia en algunas propiedades fisicoquímicas como textura, permeabilidad y pH, favorecieron en cierta medida al transporte del contaminante a través del suelo hasta las plantas.

El comportamiento metabólico y foliar en las especies vegetales evaluadas *H. psittacorum* y *C. esculenta* se vieron afectados por la presencia del óxido de mercurio, presentando afectaciones generales como disminución de crecimiento radicular, disminución en la capacidad de adsorción de nutrientes por la planta manifestándose síntomas de deficiencia de macronutrientes en las especies vegetales, daño en plántulas, mortandad de individuos viejos, crecimiento retrasado, cambios en la clorofila del haz de sus hojas, debilitamiento en sus tallos y moteado de colores amarillo y morados.

Ambas especies vegetales evaluadas mostraron un buen desempeño para ser clasificadas como acumuladoras de metales pesados, y por ende bioindicadoras de la presencia del mismo; sin embargo cada especie reacciona diferente frente a las diferentes concentraciones; por su parte la *Heliconia psittacorum* se adapta mejor a condiciones extremas, es decir a mayores concentraciones (entre 5 y 10 mg/L), presenta daño pero se adecúa al cambio. Y la *Colocasia esculenta* es mejor bioindicadora a concentraciones más bajas (entre 0,6 y 2,5 mg/L), presentando disminución drástica de individuos o mortandad a concentraciones más altas (5 y 10 mg/L).

Recomendaciones

Ambas especies vegetales indican presencia de Mercurio en el suelo, sin embargo para determinar si el mercurio es retenido en las hojas de la planta se deben hacer análisis de espectrofotometría de adsorción atómica para así cuantificar la concentración exacta del metal en las hojas y en el suelo, comparando las concentraciones para determinar qué cantidad fue realmente fitoextraída por la planta.

En cuanto al análisis foliar se recomienda desarrollar más muestreos a periodos de exposición más largos con más repeticiones muestrales de cada especie en cada concentración.

El uso de softwares más avanzados o nuevas versiones del software CobCal, para la determinación cualitativa de los efectos sobre y área foliar afectada de las especies vegetales a partir de la colorimetría.

Se recomienda plantear una base presupuestal más alta para así tener los recursos necesarios para realizar los análisis edafológicos y foliares con otro tipo de metodologías más específicas y en mayor proporción.

Bibliografía

- Agromática. (2014). Cultivo de Brassica nigra o mostaza negra - Agromática. Retrieved February 19, 2017, from <http://www.agromatica.es/brassica-nigra-o-mostaza-negra/>
- Alcaino, G. (2012). *Análisis de Comparación de Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados con Metales*. Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Retrieved from http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/113010/cf-alcaino_gc.pdf?sequence=1
- Azevedo, R., & Rodriguez, E. (2012). Phytotoxicity of Mercury in Plants: A Review. *Journal of Botany*, 26, 6. Retrieved from <http://docplayer.es/30871362-Fitotoxicidad-del-mercurio-en-las-plantas-resena.html>
- Azpilicueta, C., Pena, L., & Gallego, S. (2010). Los Metales y las Plantas: Entre la Nutrición y la Toxicidad. *Ciencia Hoy*, 20, 5.
- Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1992). *Respuesta de las Plantas a la Contaminación por Metales Pesados*. Barcelona España. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Juan_Barcelo/publication/285841974_Respuestas_de_las_plantas_a_la_contaminacion_por_metales_pesados/links/5668061708aea62726ef99f8.pdf
- Bernad, I., Sanz, J., Valiño, M., & Fernández, S. (2006). *Técnicas de Recuperación de Suelos Contaminados - Vigilancia Tecnológica* 6. Madrid España.
- Botanical. (2014). Los Tubérculos. Retrieved February 19, 2017, from <http://www.botanical-online.com/tiposdetuberculos.htm>
- Catálogo de la Biodiversidad de Colombia. (2008). Catálogo de la Biodiversidad de Colombia. Retrieved February 19, 2017, from <http://catalogo.biodiversidad.co/fichas/1575>
- Cock, J. H., Álvarez, D. M., & Estrada, M. (2011). RASTA & Quot: Guía Práctica Para la Caracterización del Suelo y del Terreno. *RASTA, II*, 62. Retrieved from https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/69682/RASTA_2011.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Colombia, C. de la R. de. Decreto 1594 de 1984 (1984). Retrieved from <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=18617>
- Congreso De Colombia. Ley 1658 de 2013 (2013). Retrieved from http://www.minambiente.gov.co/images/Atencion_y_participacion_al_ciudadano/Consulta_Publica/LEY_1658_DEL_15_DE_JULIO_DE_2013.pdf

- Congreso de la República de Colombia. Ley 388 de 1997 (1997). Retrieved from <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=339>
- Cool Tropical Plants. (2010). Colocasia Esculenta. Retrieved February 19, 2017, from <http://www.cooltropicalplants.com/Colocasia-esculenta.html>
- Corrales, E. (2014). *Alternativas de Disposición para la Fitorremediación de Suelos Contaminados por Actividades Mineras*. Corporación Universitaria Lasallista.
- Crosara, A. (n.d.). *El Suelo y los Problemas Ambientales*. Monte Video Uruguay.
- Delgadillo, A., González, C., Prieto, F., Villagómez, J., & Acevedo, O. (2011). Fitorremediación: Una Alternativa Para Disminuir la Contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597–612.
- Fondo Europeo de Desarrollo Regional. (2015). Características de Sinapis Alba Como Cubierta Vegetal y Para Biofumigación. *Agricultura Andalucía*, 27. Retrieved from <http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/-/action/3a269130-1bb9-11df-b7e2-9dc1a0f432f2/e5747030-1bb8-11df-b7e2-35c8dbbe5a83/es/d37ec860-4634-11e0-9740-bd3181e5ef4b/alfrescoDocument?i3pn=contenidoAlf&i3pt=S&i3l=es&i3d=e5747030-1bb8-11df-b7e2->
- Galán Huertos, E., & Romero Baena, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Macla*, 10, 48–60.
- Galván, R. (2010). *Glosario Ecológico*. Retrieved from http://www.elcastellano.org/glosario_ambiental.pdf
- García, I., & Dorronsoro, C. (2013). Contaminación del suelo. Retrieved February 22, 2018, from <http://www.edafologia.net/conta/tema00/progr.htm>
- Gómez Giraldo, J. C. (2013). *Manual de Prácticas de Campo y del Laboratorio de Suelos*. Tolima - Colombia. Retrieved from http://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/2785/1/practicas_campo_laboratorio_suelos.pdf
- Hawksworth, D., Iturriaga, T., & Crespo, A. (2005). Líquenes como Bioindicadores Inmediatos de Contaminación y Cambios Medio-Ambientales en los Trópicos. *Rev Iberoam Micol*, 22, 71–82. Retrieved from <http://www.reviberoammicol.com/2005-22/071082.pdf>
- Iannacone, J., & Alvarino, L. (2005). Efecto Ecotoxicológico de tres Metales Pesados Sobre el Crecimiento Radicular de Cuatro Plantas Vasculares. *Agricultura Técnica*, 65(2), 198–203. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072005000200009>
- ICA. Ley 822 de 2003 (2003). Retrieved from <http://www.ica.gov.co/getattachment/c7999637-49d8-4f2d-99df-e5ebb065f896/2003L822.aspx>

- ICA. Resolución 150 de 2003 (2010). Retrieved from <http://www.ica.gov.co/getattachment/57fca054-a919-4e7f-bd8f-69803492eb3a/2010R968.aspx>
- IGAC. (2004). *Estudio General de Suelos y Zonificación de Tierras Departamento de Meta*. IGAC. Retrieved from <http://catalogo.unillanos.edu.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=17983>
- Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2012). *El cultivo de Heliconias: Medidas para la Temporada Invernal*. Bogotá D.C. Colombia.
- INTA. (2011). Herramienta para Multiplicar la Eficiencia Operativa INTA. Retrieved February 19, 2017, from <http://intainforma.inta.gov.ar/?p=7871>
- Madera, C., Salamanca, 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*, 16(Nº 2), 179–188. Retrieved from <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.scielo.org.co/pdf/inco/v16n2/v16n2a16.pdf>
- Mahecha, J., Trujillo, J. M., & Torres, M. (2015). Contenido de Metales Pesados en Suelos Agrícolas de la Región del Ariari, Departamento del Meta. *Scielo*, 19, 118–122. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v19n1/v19n1a11.pdf>
- Millán, R., Carpena, R. ., Schmid, T., Sierra, M. ., Moreno, E., Peñalosa, J., ... Esteban, E. (2007). Rehabilitación de Suelos Contaminados con Mercurio: Estrategias Aplicables en el Área de Almadén. *Ecosistemas - Revista Científica Y Técnica de Ecología Y Medio Ambiente*, 16 (2), 56–66. Retrieved from <http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/viewFile/130/127>
- Ministerio de Minas y Energía República de Colombia. (2012). *Censo Minero Departamental 2010-2011*. Bogotá D.C. Retrieved from <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/698204/CensoMinero.pdf/093cec57-05e8-416b-8e0c-5e4f7c1d6820>
- Ministerio de Salud. Decreto 1843 de 1991 (1991). Retrieved from http://www.andi.com.co/es/PC/SobProANDI/Documentos Sobre Procultivos ANDI/Decreto1843_1991_plaguicidas.pdf
- NaturaGates. (n.d.). Mostaza Blanca: Sinapis Alba. Retrieved January 17, 2018, from <http://www.luontoportti.com/suomi/es/kukkakasvit/mostaza-blanca>
- Olivero, J., & Restrepo, B. (2002). *El Lado Gris de la Minería del Oro: La Contaminación con Mercurio en el Norte de Colombia*. Cartagena de Indias.

- Olmos, J., Gavilán, I., Santos, E., Yarto, M., Gavilán, A., Rosiles, R., & Suárez, S. (2012). *Especiación y Cuantificación de Mercurio en Suelos Contaminados con Residuos de Minería*. México D.F. Retrieved from http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-26.pdf
- Presidente de la República. Decreto 2811 de 1974 (1974). Retrieved from <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=1551>
- Roque, R. (n.d.). Plantas Hiperacumuladoras de Metales Pesados. Retrieved February 19, 2017, from <https://es.scribd.com/doc/203544310/Plantas-Hiperacumuladoras-de-Metales-Pesados#>
- Roqueme, J., Pinedo, J. J., Marrugo, J. L., & Aparicio, A. (2014). Metales Pesados en Suelos Agrícolas del Valle Medio y Bajo del Río Sinú, Departamento de Cordoba. *Memorias Del II Seminario de Ciencias Ambientales Y Gestión Ambiental*, 106–112. Retrieved from <http://maestriaambiental.com/memorias/16.pdf>
- Salamanca, E., Parra, C., Sanchez, J., & Vásquez, J. (2013). Biospecting of Native Plants for Their use in Bioremediation Process - Heliconia Psittacorum. *Revista Académica Colombiana de Ciencias*, XXXVII(0370–3908), 469–481. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0370-39082013000400004&script=sci_arttext&lng=es
- Serrano, R. (2003). *Introducción al Análisis de Datos Experimentales: Tratamiento de Datos en Bioensayos*.
- Servicio Agrícola y Ganadero de Chile. (n.d.). *Análisis de Regulaciones Internacionales sobre Calidad y Protección del Suelo*. Chile. Retrieved from http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_agricolas/pdf_suelos/9_normativas.pdf
- Silbergeld, E. (n.d.). TOxicología Herramientas y Enfoques: Definiciones y Conceptos. In *Enciclopedia de la salud y seguridad en el trabajo* (p. 82). España. Retrieved from <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>
- Solano, A. (2005). *Movilización de Metales Pesados en Residuos y Suelos Industriales Afectados por la Hidrometalurgia del Cinc*. Universidad de Murcia.
- Taiz, L., Zeiger, E., & Publicacions., U. J. I. (2006). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume I.
- Tucker, R. (1985). *LaMotte Soil HandBook Acknowledgment*. Chestertown Maryland: 1930. Retrieved from <http://environmental-mates.wikispaces.com/file/view/soil-handbook.pdf>

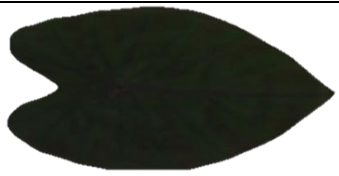
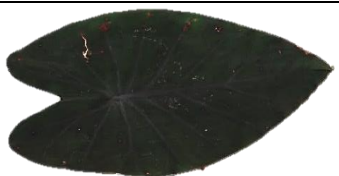
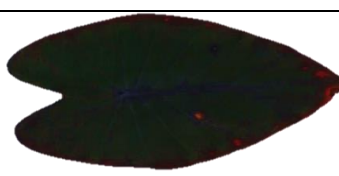
- Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa. (n.d.). *Bioensayos*. Mexico. Retrieved from http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/patt/7._Efecto_de_los_Contaminantes/BIOENSAYOS.pdf
- Universidad de Antioquia. (2008). Heliconia - Heliconia Psittacorum L. f. |. Retrieved February 19, 2017, from <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/ova/?q=node/645#>
- Universidad Javeriana de Jaén. (n.d.). Color. Retrieved February 8, 2018, from <http://www.ujaen.es/huesped/pidoceps/telav/fundespec/color.htm>
- Vidal, J., Marrugo, J., Jaramillo, B., & Perez, L. (2010). Remediación de Suelos Contaminados con Mercurio Utilizando Guarumo (Cecropia Peltata). *Ingeniería Y Desarrollo*, 27, 113–129. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/inde/n27/n27a07.pdf>
- Villarejo, A. (2014). Ecotoxicología y Acción Toxicologica del Mercurio. *Ambientalex.info*, 25. Retrieved from <http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Ecoacctoxtmerint.pdf>
- Yarto, M., Gavilán, A., & Castro, J. (2004). La Contaminación por Mercurio en México. *Gaceta Ecológica*, 72, 21–34. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/539/53907202.pdf>



Apéndice 1. Ubicación geoespacial del lugar de estudio (Invernadero). Adaptado de “Software ArcGis”; por Domínguez, 2018.

Apéndice 2. Daño foliar por Oxido de Mercurio en las especies de estudio posterior a los Bioensayos

Especie	Repeticiones	Concentración mg/L	Área Total Hoja		Área sin daño		Daño		Imagen
			Sup.Cub (cm2)	% Cob	Sup.Cub (cm2)	% Cob	Sup.Cub (cm2)	% Cob	
<i>Heliconia Psittacorum</i>	R1	0	1880,19	100	1.880,19	100	0	0	
	R2	0	1284,69	100	1183,53	92,13	101,16	7,87	
	R3	0	3029,97	100	2941,73	97,09	88,24	2,91	
	R1	0,6	2585,57	100	2.518,57	97,41	67	2,59	
	R2	0,6	2841,01	100	2791,16	98,25	49,85	1,75	
	R3	0,6	2832,5	100	2797,11	98,75	35,39	1,25	
	R1	1,5	2708,18	100	2.641,38	97,53	66,8	2,47	
	R2	1,5	2721,19	100	2674,87	98,3	46,32	1,70	
	R3	1,5	2982,19	100	2660,91	89,23	321,28	10,77	
	R1	2,5	2722,72	100	2.499,3	91,79	223,42	8,21	
	R2	2,5	1908,98	100	1653,25	86,6	225,73	13,4	
	R3	2,5	2118,76	100	2060,77	97,26	57,99	2,74	
	R1	5,0	1516,2	100	1442,24	95,11	73,96	4,89	
	R2	5,0	2274,54	100	2087,87	91,79	186,67	8,21	
	R3	5,0	3121,69	100	2879,39	92,24	242,3	7,76	
	R1	10	2855,07	100	2.763,47	96,79	91,6	3,21	
	R2	10	2961,29	100	2506,56	84,64	454,73	15,35	
	R3	10	2872,41	100	2636,26	91,78	236,15	8,22	

<i>Colocasia Esculenta</i>	R1	0	3.323,47	100	3.323,47	100	0	0	
	R2	0	3277,59	100	3117,92	95,13	159,67	4,87	
	R3	0	3029,97	100	2941,73	97,09	88,24	2,91	
	R1	0,6	3.192,56	100	3.124,84	97,88	67,72	2,12	
	R2	0,6	3078,9	100	3005,5	97,62	73,4	2,38	
	R3	0,6	3414,87	100	3275,1	95,91	139,77	4,09	
	R1	1,5	3.141,58	100	3.093,07	98,45	48,51	1,55	
	R2	1,5	2926,88	100	2847,77	97,3	79,11	2,70	
	R3	1,5	3564,16	100	3371,81	94,60	192,35	5,4	
	R1	2,5	3.156,82	100	3.100,08	98,20	56,74	1,80	
	R2	2,5	3155,99	100	3031,28	96,05	124,71	3,95	
	R3	2,5	3051,14	100	2956,67	96,9	94,47	3,1	
	R1	5,0	3044,19	100	2.990,33	98,22	53,86	1,78	
	R2	5,0	2656,7	100	2621,3	98,67	35,4	1,33	
	R3	5,0	3018,95	100	2733,48	90,54	285,47	9,46	
	R1	10	3055,42	100	2.678,48	87,66	376,94	12,34	
	R2	10	3373,82	100	3213,25	95,24	160,57	4,76	
	R3	10	3172,68	100	2733,48	90,54	285,47	9,46	

Nota: Cuantificación del daño foliar por oxido de mercurio en las especies. Adaptado de “Software CobCal”; por Domínguez, 2018.

Anexo 1. Daño foliar por Oxido de Mercurio en las especies de estudio previo a los Bioensayos								
Especie	Repeticiones	Concentración mg/L	Área Total Hoja		Área sin daño		Daño	
			Sup.Cub (cm2)	% Cob	Sup.Cub (cm2)	% Cob	Sup.Cub (cm2)	% Cob
<i>Heliconia Psittacorum</i>	R1	0	3270,5	100	3270,5	100	0	0
	R2	0	2849,98	100	2849,98	100	0	0
	R1	0,6	2099,02	100	2099,02	100	0	0
	R2	0,6	1920,42	100	1920,42	100	0	0
	R1	1,5	3086,67	100	3086,67	100	0	0
	R2	1,5	3031,58	100	3026,08	99,82	5,5	0,18
	R1	2,5	2515,97	100	2471,55	98,26	44,42	1,74
	R2	2,5	2163,59	100	2162,6	99,95	0,99	0,046
	R1	5,0	2635,52	100	2635,52	100	0	0
	R2	5,0	2423,32	100	2388,49	98,56	34,83	1,44
	R1	10	2296,15	100	2261,84	98,50	34,31	1,49
	R2	10	2587,92	100	2587,92	100	0	0
<i>Colocasia Esculenta</i>	R1	0	3388,89	100	3388,89	100	0	0
	R2	0	3225,67	100	3225,67	100	0	0
	R1	0,6	3323,61	100	3323,61	100	0	0
	R2	0,6	3440,97	100	3440,97	100	0	0
	R1	1,5	3391,18	100	3391,18	100	0	0
	R2	1,5	3204,82	100	3148,61	98,25	56,21	1,75
	R1	2,5	2735,68	100	2580,75	95,33	154,93	4,67
	R2	2,5	3214,76	100	3214,76	100	0	0
	R1	5,0	3243,75	100	3243,75	100	0	0
	R2	5,0	3274,38	100	3274,38	100	0	0
	R1	10	2951,54	100	2935,38	99,45	16,16	0,55
	R2	10	3244,27	100	3244,27	100	0	0

Nota: Cuantificación del daño foliar por oxido de mercurio en las especies. Adaptado de “Software CobCal”; por Domínguez, 2018.