

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Escuela Académico Profesional Ingeniería Ambiental**

**Celendín**



**Bioacumulación y translocación de plomo en plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), en función de su concentración en el medio de cultivo**

**TESIS**

**Para Optar El Título Profesional De:**

**Ingeniero Ambiental**

**PRESENTADO POR:**

**BACHILLER : Josue David Pereyra Monja**

**ASESOR : Segundo Berardo Escalante Zumaeta**

**CAJAMARCA- PERÚ**

**2019**



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

Norte de la Universidad Peruana

Fundada por Ley 14015 del 13 de febrero de 1962

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

### Secretaría Académica



#### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, a los **trece** días del mes de enero del año dos mil veinte, se reunieron en el ambiente **2C-211** de la Facultad de Ciencias Agrarias, los integrantes del Jurado designados por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias, según Resolución de Consejo de Facultad N° 317-2019-FCA-UNC, de fecha 12 de Julio de 2019, con el objeto de Evaluar la sustentación de la Tesis titulada: “**Bioacumulación y translocación de plomo en plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), en función de su concentración en el medio de cultivo**”, para optar el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL**, de la Bachiller: **PEREYRA MONJA JOSUE DAVID**;

A las **dieciséis** horas y **diez** minutos y de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el presidente del Jurado dio por iniciado el acto. Después de la exposición del trabajo de Tesis, la formulación de preguntas y de la deliberación del Jurado, el presidente anunció la **aprobación** por **unanimidad** con el calificativo de **catorce (14)**.

Por lo tanto, el graduando queda expedito para que se le expida el **Título Profesional** correspondiente.

A las **diecisiete** horas y **cuarenta y cinco** minutos, el presidente del Jurado dio por concluido el acto.

Cajamarca, 13 de enero de 2020.

Dr. Juan Francisco Seminario Cunya  
**PRESIDENTE**

Ing. M. Cs. David Ricardo Uriol Valverde  
**SECRETARIO**

Ing. M. Sc. Giovana Ernestina Chávez Horna  
**VOCAL**

Dr. Segundo Berardo Escalante Zumaeta  
**ASESOR**

## DEDICATORIA

A Dios por ser mi compañía y guiar mis pasos “No existen las casualidades solo hay un propósito que aún no hemos comprendido, porque todo pasa por algo para enseñarnos una lección, para descubrir quiénes somos en realidad, para ayudarnos en los que queremos alcanzar o para mostrarnos un camino mejor” – Maktub.

“Familia, donde la vida comienza y el amor nunca termina”. Porque ustedes fueron la base de mi educación, haciéndome fuerte con los golpes de la vida. A mi madre que me dejó con una idea de educación. Agradezco por todo el apoyo en mi vida y el desarrollo de mi tesis

## **AGRADECIMIENTO**

A los Doctores Berardo Escalante Zumaeta, Dr. Carlos Tirado Soto, Juan Seminario Cunya; asesores a quien expreso mi profundo agradecimiento por su apoyo y orientación, durante la realización del presente trabajo de investigación.

A los docentes de la facultad de ciencias Agrarias escuela académica de Ingeniería Ambiental.

A cada persona que forma parte de mi vida, apoyándome y enseñándome a ser una mejor persona; aprendiendo a desarrollarme en mi vida profesional. A aquellas personas que estuvieron durante mucho tiempo y aquellas que en tan poco tiempo se convirtieron en parte de mi vida.

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la Bioacumulación, translocación, efectos morfológicos e índices de crecimiento por causa del metal pesado plomo en plántulas de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), utilizando un diseño experimental completamente randomizado con 4 niveles de concentración de plomo (0.0; 310.8; 621.6; 932.3 ppm.) y 8 repeticiones. Las plántulas se evaluaron a los 60 días. Los datos obtenidos en el laboratorio indican que la Bioacumulación y translocación es de progresión lineal de acuerdo a la concentración de plomo; mostrando la C<sub>3</sub> la mayor bioacumulación de plomo: C<sub>3</sub> (13961 mg Pb/kg); y lo mismo en las concentraciones de la biomasa radicular: C<sub>3</sub> (23926 mg Pb/kg); por lo que indican que *Ananas comosus (L.) Merrill*, es una planta bioacumuladora del metal pesado plomo. Respecto al factor de translocación (FT) es C<sub>1</sub> (0.358); C<sub>2</sub> (0.484) y C<sub>3</sub> (0.584), mostraron un factor menor a 1 indicando que son translocadora en menor grado. El patrón morfológico mostró delgadez y hojas dobladas, marchites, necrosis en hojas y raíces de C<sub>3</sub>. Se mostró disminución lineal respecto al índice de crecimiento;

Palabras clave: Bioacumulación, translocación, plomo, planta *in vitro*, *Ananas comosus L. Merrill*, medio de cultivo.

## ABSTRACT

The objective of the research was to determine the Bioaccumulation, translocation, morphological effects and growth rates due to the heavy metal lead in pineapple seedlings (*Ananas comosus* (L.) Merrill), using a completely randomized experimental design with 4 levels of concentration of lead (0.0; 310.8; 621.6; 932.3 ppm.) and 8 repetitions. Seedlings were evaluated at 60 days. The data detected in the laboratory indicate that the Bioaccumulation and translocation is of linear progression according to the lead concentration; C<sub>3</sub> showing the highest bioaccumulation of lead: C<sub>3</sub> (13961 mg Pb/kg); and the same in the concentrations of the root biomass: C<sub>3</sub> (23926 mg Pb/kg); so they indicate that *Ananas comosus* (L.) Merrill is a bioaccumulating plant for heavy metal lead. Regarding the translocation factor (FT) is C<sub>1</sub> (0.358); C<sub>2</sub> (0.484) and C<sub>3</sub> (0.584), had a factor less than 1 indicating that they are translocators to a lesser degree. The morphological pattern showed thinness and folded, wilted leaves, leaf necrosis and C<sub>3</sub> roots. It decreased linearly with respect to the growth rate;

Key words: Bioaccumulation, translocation, lead, in vitro plant, *Ananas comosus* L. Merrill, culture medium.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Problema de investigación .....	2
1.2. Formulación del problema .....	3
1.3. Objetivos de investigación.....	4
1.4. Hipótesis .....	4
CAPÍTULO II.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación .....	5
2.2. Bases teóricas.....	9
CAPÍTULO III.....	18
MATERIALES Y METODO .....	18
3.1. Ubicación geográfica de la investigación. ....	18
3.2. Materiales.....	18
3.3. Metodología .....	19
3.4. Evaluaciones: .....	23
3.4.1. Bioacumulación.....	23
3.4.2. Factor de translocación.....	24
3.4.3. Morfología de plántulas:.....	24
3.4.4. Índices del crecimiento.....	24
3.4.4.1. Relación de Crecimiento .....	24
3.4.4.2. Índice de tolerancia del plomo (IT).....	24
3.5. Análisis estadístico.....	25
CAPÍTULO IV .....	27

<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>27</b>
4.1. Bioacumulación .....	27
4.2. Factor de translocación.....	30
4.3. Variaciones del patrón morfológico.....	31
4.4. Índices del crecimiento .....	33
4.4.1. Relación de Crecimiento .....	33
4.4.2. Índice de tolerancia del plomo .....	37
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO VI .....</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>41</b>
<b>CAPÍTULO VII .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXO Y APÉNDICE.....</b>	<b>48</b>

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El plomo ocurre de forma natural en el ambiente; sin embargo, la minería es el mayor generador en el Perú. La producción nacional de plomo en el 2018 registró un volumen de 289.195 TMF, Perú logró escalar una posición ubicándose en tercer lugar como productor mundial de plomo con un aporte del 6.5% del total producido, permitiendo al Perú reafirmar su posición de primer lugar en Latinoamérica y tercero a nivel mundial, mientras China y Australia se ubicaron en primer y segundo lugar en la producción mundial de plomo con una participación del 47.5% y 10.2%, respectivamente. (Sanchez *et al.*, 2018)

La fundición de metales para separar los minerales ha introducido muchos contaminantes al suelo. Las instalaciones mineras y de fundición liberan enormes cantidades de metales pesados (plomo) y otros elementos tóxicos al medio ambiente; éstos persisten durante periodos prolongados, mucho después del término de estas actividades, Estas partículas contaminadas pueden ser dispersadas por la acción de la erosión hídrica y eólica, pudiendo alcanzar suelos agrícolas. (Ogundele *et al.*, 2017).

Una vez en el suelo, la disponibilidad y posibilidad de absorción del plomo por parte de la planta es mejorada por el grado de acidez del mismo. Es más disponible y fácilmente absorbible en suelos de pH ácido, característica química que a la vez resulta adecuada para el crecimiento del cultivo de piña (Raskin 1994). Sin embargo, debe tomarse en cuenta que las especies vegetales han desarrollado tres estrategias básicas para poder crecer en ambientes contaminados.

La primera, lo presentan las denominadas plantas excluidoras de metales y se relaciona con la prevención de la entrada de los metales o mantenimiento de una baja y constante concentración de éstos sobre un amplio rango de metales en las raíces; La segunda, lo presentan las plantas llamadas indicadoras de metales, que acumulan metales pesados en sus tejidos aéreos y generalmente reflejan el nivel del metal en el suelo; y la tercera, lo muestran las plantas híper

acumuladoras, capaces de absorber metales pesados en una cantidad equivalente al 0,1 - 1% de su peso seco, para luego acumularlo en sus partes aéreas sin sufrir efecto Fito tóxico. Esto es posible gracias a la rápida translocación del metal a las hojas y su posterior detoxificación y secuestro en ellas (Ghosh y Singh 2005).

La piña, es una especie vegetal que óptimamente es cultivada en suelos de pH ácidos, cuyos frutos tienen una elevada y creciente demanda en el mercado. Estas propiedades la convierten en un excelente vehículo para el traslado del plomo desde el suelo al organismo del consumidor, en razón a lo cual, es de suma importancia conocer cuál de las tres estrategias antes descritas ha desarrollado al ser rutinariamente cultivada en suelos ácidos donde el plomo es el contaminante de mayor disponibilidad (Basantes y Chasipanta 2012).

Bajo este razonamiento, en la presente investigación se sometió un plantel selecto de plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), a la presión de niveles crecientes de plomo para estudiar la capacidad de bioacumulación y translocación de este metal en sus tejidos, así como sus efectos en la morfología de la plántula.

### **1.1. Problema de investigación**

Los metales pesados son peligrosos porque luego de su introducción en la planta, tienden a bioacumularse en sus diferentes tejidos. Esto significa que su concentración va aumentando en la planta hasta convertirlo en insegura o no apta para su uso por otros organismos. El plomo (Pb), por ejemplo, es un contaminante ambiental altamente tóxico, cuya presencia en el ambiente se debe principalmente a las actividades antropogénicas como la industria, la minería y la fundición (Basantes y Chasipanta 2012). En los estudios realizados en Lima demostraron que se encontraba por encima de lo permitido por los Estándares de Calidad Ambiental (ECA – Perú: 140 ppm) mostrando resultados mayores a 170 ppm de Pb (Tello *et al.* 2018)

En los suelos contaminados se encuentra una carga electrostática que es la fuerza de repulsión o atracción del material gracias a sus características iónicas y de polaridad, el factor que influye directamente el potencial de biosorbente es el pH de la solución, puesto que aun pH ácido se observa el incremento de la negatividad de la carga elevando la posibilidad de formación de enlaces con compuestos de carga positiva (Mantilla *et al.* 2008; Moreno y Monica 2016).

La piña es una fruta que se siembra en pH ácido con carga positiva generando las características de un biosorbente de plomo, además es muy apreciada en todo el mundo, ya que constituye una fuente natural de proteínas, vitaminas A, B y C, minerales como el hierro y fósforo y sustancias fermentativas que ayudan a proteger la membrana estomacal, rica en carbohidratos y fibra, por lo que es conocida como un alimento digestivo, debido a que contiene Bromelina, una enzima que actúa sobre la proteína (CONAFRUT 1981). Además, la piña tiene capacidad para actuar como antioxidante en los sistemas biológicos, pudiendo unirse a polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de minerales, catalizando el transporte de electrones y depurando radicales libres produciendo mecanismo de biosorción (Gryglewki *et al.* 1987).

De lo expuesto se deduce que la piña es una especie vegetal importante en la alimentación humana pero extremadamente vulnerable a la contaminación por metales pesados, especialmente de plomo, sobre todo si es cultivada en el suelo que técnicamente corresponde. Esto es en suelos de origen volcánico y pH ácido, condiciones bajo las cuales el plomo es más soluble y absorbible por la planta. En este contexto, se inició la investigación como un medio para determinar la capacidad de bioacumulación y translocación del plomo en la plántula de piña.

## **1.2. Formulación del problema**

¿Cómo varía la bioacumulación y translocación de plomo en plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus* (L.) Merrill), en función de su concentración en el medio de cultivo?

### **1.3. Objetivos de investigación**

#### **Objetivo general.**

Determinar las variaciones de bioacumulación y translocación de plomo en plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), en función a su concentración en el medio de cultivo.

#### **Objetivos específicos.**

1. Evaluar las variaciones de bioacumulación de plomo.
2. Evaluar las variaciones de translocación de plomo.
3. Evaluar las variaciones del patrón morfológico.
4. Evaluar índices del crecimiento de las plántulas.

### **1.4. Hipótesis**

La bioacumulación y translocación de plomo en plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus (L.) Merrill*), registra un incremento lineal en función a su concentración en el medio de cultivo.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Antecedentes teóricos de la investigación

Rodríguez (2016), evaluó la capacidad de *Prosopis laevigata* como acumuladora de metales pesados, entre ellos el plomo, con la finalidad de determinar la capacidad de bioacumulación. Las Semillas se cultivaron asépticamente durante 50 días en medio de cultivo Murashige & Skoog suplementado con 50 mg/L de Pb. El tratamiento tuvo índice de tolerancia (IT = 0.85). Respecto a la acumulación de metales en los tejidos, en general, se observó mayor acumulación en raíces que en tallos (785 mg/kg de raíces de Pb). *P. laevigata*; puede ser considerada como potencial hiper acumuladora de metal pesado y al ser consumida por el ganado, podría significar un riesgo para la salud humana.

Blas (2015), estudió el efecto del plomo en el crecimiento de plántulas de *Acacia macracantha Willd.* “espino” en condiciones de laboratorio, en las concentraciones de 0; 50; 100; 200 y 400 mg Pb/L en un sistema hidropónico. Se realizó el análisis de cada tratamiento separando la raíz y la parte aérea (tallo y hojas), por el método de espectrofotometría de absorción atómica y se determinó la bioacumulación de plomo, observando que el plomo causó efecto en T<sub>5</sub> (400 mg/L) en las variables de longitud de Raíz (9.06cm) y longitud de tallo (9.55 cm), en relación al testigo (12.26) y (12.46) respectivamente. La cantidad de bioacumulación tuvo el valor de 3,904 mg Pb/g.

Ebbs y Kochian (1997), examinaron plantas de *Brassica juncea*, *B. rapa* y *B. napus L.* cultivadas hidropónicamente durante 14 días adicionales en presencia de Zn elevado (6.5 mg L<sup>-1</sup>), Cu (0.32 mg L<sup>-1</sup>), para cuantificar los efectos tóxicos de estos metales en varios parámetros de crecimiento diferentes. Con pocas excepciones, tanto el peso seco de la raíz como el de los brotes para las tres especies disminuyeron significativamente en presencia de metales pesados. La acumulación fue mayor en los brotes que en la raíz. La *Brassica spp.* fueron más efectivos para eliminar el Zn de la solución nutritiva que el Cu.

Lerda (1992), estudió el efecto del plomo en *Allium cepa L.* a concentraciones de 0,1; 1,0; 10; 50; 100 y 200 ppm. El análisis se centró en el crecimiento de la raíz, la frecuencia de la mitosis en una zona meristemática y las aberraciones cromosómicas. Se observó que el plomo reduce el crecimiento de la raíz y la frecuencia de las células mitóticas en zonas meristemática, y aumenta la frecuencia de las células aberrantes. La intensidad de los efectos es una función de la concentración de plomo.

Hoyos y Guerrero (2014), investigaron la concentración de Pb por bioacumulación de *Brassica oleracea subsp. Capitata (L.) Metzg.* Y *Raphanus sativus L.*, regadas con aguas a diferentes concentraciones de cada metal. Para ello se trabajó con 20 plantas, estas fueron sometidas a tratamientos de 0, 150 y 300 mg/L de cada metal con 4 repeticiones durante 60 días, realizando análisis correspondientes de plomo por espectrofotometría de absorción atómica Perkin Elmer. Los resultados refieren que en la parte aérea de *B. Oleracea Subsp. Capitata (L.) Metzg.*, en la raíz de *R. sativus L.* el plomo y el cadmio se bioacumulan con mayor concentración en soluciones de 300 mg/L, lo que demuestra que existe una relación direccional ascendente con las soluciones concentradas de los diferentes tratamientos.

Padilla (2005), estudió la eficiencia de remoción de *Eichhomia crassipes*, *Scirpus californicus* y *Cyperus corymbosus*, en la acumulación de plomo. Con la finalidad de conocer la acumulación de estos elementos químicos en sus diferentes partes. La investigación se realizó a través del tratamiento durante 60 días y la observación microscopía de cortes histológicos de las diferentes partes de la planta, luego se realizó la evaluación de espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados indicaron que las plantas utilizadas resisten a la acción de los elementos químicos citados y tienen capacidad de almacenarlas en sus raíces, con menores concentraciones en la parte aérea, por lo que concluye que *E. crassipes*, *S. Californicus* y *C. corymbosus*, son eficaces en la absorción de los metales pesados y entre ellas *E. crassipes*, tiene mayor habilidad en la absorción y acumulación.

Sanchez (2010), estudio el mecanismo de adsorción y acumulación intracelular y la hiperacumulación de  $Pb^{2+}$  en *Salvinia mínima* a diferentes niveles, determinándose la hiperacumulación de  $Pb^{2+}$  en intervalo de concentraciones  $Pb^{2+}$  (0.8; 2.70; 4.70; 15.18; 28.40 mg) y tiempos de exposición (0.5; 2; 4; 6; 8 y 24 h) en presencia de ciertos compuesto orgánicos e inorgánicos (ácido propionico y sulfato de magnesio). Este proceso se debe principalmente a la adsorción (FAD en el intervalo de 780 a 1980), resultado de sus extraordinarias características fisicoquímicas. Asimismo, se encontró que el  $Pb^{2+}$  fue acumulado intracelularmente a concentraciones altas como 28.40 mg  $Pb^{2+}$ /L

Zarazúa *et al.* (2013), evaluaron la Bioacumulación del metal Pb en las partes aéreas y sumergidas de *Hydrocotyle ranunculoides*. Se tomaron muestras de *H. ranunculoides* en seis sitios del río, se analizaron por la técnica de espectrofotometría de emisión óptica de plasma (ICP-OES). En la parte aérea de *H. ranunculoides* los resultados muestra que Pb (<1.1 mg/kg) y en la parte sumergidas Pb (7.70 mg/kg), la bioacumulación fue más alto en las estructuras sumergidas de la planta lo que demuestra una baja movilidad para los metales analizados. Como resultado de este estudio se puede considerar que *H. ranunculoides* es un buen indicador de contaminación por metales en cuerpos de agua y tiene la capacidad de concentrar ( $\geq 70\%$ ) y bioacumulan metales pesados principalmente en las estructuras sumergidas.

Arunakumara *et al.* (2007), realizaron un estudio comparativo de bioacumulación del plomo en *Synechocystis sp.*, bajo condiciones de laboratorio. El crecimiento fue medido mediante el conteo de células, revelando que las bajas concentraciones de Pb provocan una ligera estimulación del crecimiento de *Synechocystis sp.* Se observó una rápida remoción de los metales durante los dos primeros días de incubación, seguida por una reducción gradual. Las máximas acumulaciones se registraron después de seis días. La especie resultó ser una buena acumuladora de metales con factores de bioconcentración de 20 657 para el  $Pb^{2+}$ .

Ospina *et al.* (2006), realizaron bioensayos con algas para el manejo y control de la contaminación por sustancias tóxicas, evaluando la capacidad de acumulación de plomo (Pb) en el alga verde *Rhizoclonium riparium* en condiciones de laboratorio. Los especímenes del alga fueron expuestos a concentraciones de 0.1; 1.0; 10 y 15  $\mu\text{g/ml}$  de plomo por periodos de 2; 12; 24 y 144 horas a diferentes concentraciones de salinidades (0; 5; 15; 30 y 60 %). Las concentraciones de metal fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica. Las mayores tasas de acumulación del metal se encontraron a una salinidad de 15 % mostrando un patrón lineal que incrementó con la exposición en el tiempo.

Gupta y Rastogi (2008), realizaron una investigación a través de un análisis experimental de espectrofotometría atómica de la biomasa cuyos resultados muestran la sorción de Pb (II) a partir de biomasa de algas verdes filamentosas *Spyrogira sp*; para lo que se llevó a cabo experimentos para determinar las propiedades de biosorción de la biomasa y se observó que la capacidad máxima de adsorción de iones de Pb (II) fue alrededor de 140 mg de metal por g de biomasa, a pH 5,0 en 100 minutos. Los resultados indicaron que la biomasa de *Spyrogira sp*; es un biosorbente eficiente para la eliminación de Pb (II) a partir de soluciones acuosas.

Modher *et al.* (2009), Estudiaron los efectos de la concentración inicial y el tiempo de contacto, pH y la temperatura sobre la biosorción de plomo (II) por la biomasa de *Spyrogira neglecta* y tuvo como resultados que la capacidad máxima de adsorción de plomo (II) se vio afectada por la concentración inicial, aumentó con el pH y la temperatura de la solución de plomo (II). La capacidad de adsorción máxima (Q. Máx.) de plomo (II) por la biomasa no viviente de *Spyrogira neglecta* fue de 132 mg/g. El análisis FTIR (espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier), de la biomasa alga reveló la presencia de amina y el grupo carboxilo que eran responsables de la adsorción de plomo (II).

En enero del 2012, Siccha, evaluó en la Universidad Nacional del Callao, la eficacia de la biosorción de plomo mediante cohayuyo pre tratado (*Chondracanthus chamissoi*); cuyos resultados mostraron que ésta especie es un biosorbente eficaz, en la fase de vida esporofítica y el tratamiento del alga con cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>), con un tamaño de partícula menor a 75 µm, presentó resultados óptimos para la biosorción del Pb (II) con una capacidad de biosorción de 111,72 mg/g.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Metales pesados.**

El termino metal pesado se utiliza en referencia a metales cuyo peso específico es mayor que 5 g.cm<sup>3</sup> o disponen de un número atómico mayor a 20 (Barceló y Poschenrieder 1990).

Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0,1 % y casi siempre menor del 0,01%; no obstante, en primer lugar, conviene clarificar que el termino metales pesados es impreciso, en verdad se pretende indicar con este término a aquellos metales que, siendo elemento pesados, son tóxicos para la célula. Sin embargo, en realidad cualquier elemento que a priori es beneficioso para la célula, en concentraciones excesivas puede llegar a ser toxico. Por tanto, se seguirá manteniendo el termino metal pesado para definir dichos elementos (Navarro *et al.* 2007).

Bautista (1999), sostiene que, bajo condiciones normales, la mayoría de los compuestos de los metales potencialmente tóxicos se encuentran en cantidades fijadas por consideraciones de origen geológico y en formas químicas muy insolubles, por lo tanto, no representan un peligro para la biota, no obstante, debido a las actividades humanas, principalmente la industrial, esta situación ha cambiado radicalmente. Se han acumulado en los suelos diversos compuestos de estos elementos en grandes cantidades, rompiendo el equilibrio natural y causando la contaminación de acuíferos y, en ocasiones la introducción de estos elementos a la red trófica.

Los metales pesados en los organismos ocasionan problemas de toxicidad (capacidad intrínseca de causar daño, incluyendo los efectos potencialmente carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos) al reaccionar con los átomos de azufre presente en las proteínas, con lo que se produce una desactivación enzimática; también, por reemplazo de otros cationes esenciales en la estructura de las biomoléculas; además de ser bioacumulables (Boudou y Ribeyre 1989).

### **2.2.2. Plomo**

El plomo representa aproximadamente el 0.002% de la corteza terrestre y es el elemento más abundante entre los metales pesados, el plomo es divalente con 82 de número atómico, de peso atómico 207,19; con una densidad relativa de 11,4 g/cc (Albert 1997).

Aunque hay más de 200 minerales de plomo, los más importantes son la galena (PbS), la cerusita (PbCO<sub>3</sub>), la Cromato de plomo (II) (PbCrO<sub>4</sub>) y la piromorfita ((Pb<sub>5</sub>) (PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Cl). Pertenece al grupo IV-A de la tabla periódica y presenta dos estados de oxidación +II y +IV. En la mayoría de sus compuestos inorgánicos el plomo tiene estado de oxidación +II; de estos, las sales de bromuro y cloruro son ligeramente solubles en agua mientras que las sales de carbonato y las sales básicas son completamente insolubles (Bradl *et al.* 2005).

#### **A. Plomo en el suelo**

El comportamiento del plomo en los suelos y los sedimentos está controlado por tres factores: (1) su adsorción específica con varias fases sólidas, (2) la precipitación de compuestos de plomo que presentan una elevada estabilidad, y (3) la formación de complejos o quelatos muy estables con la materia orgánica de los suelos y sedimentos. El plomo presenta una elevada adsorción por los óxidos de manganeso y de hierro, más fuerte que cualquier otro metal, siendo mayor para los óxidos de manganeso (Jaworski 1987).

## **B. Plomo en el organismo**

El plomo puede penetrar en el organismo a través del agua, alimentos contaminados, polvillo desprendido de pinturas que lo contengan, inhalación de los gases desprendidos de los vehículos. Por muy pequeña que sea la cantidad de plomo en el organismo repercutirá sobre las funciones bioquímicas del cuerpo humano. El plomo en la sangre causa daños en casi todos los sistemas. Dificulta la producción de hemoglobina e impide la capacidad de transporte del oxígeno. Se acopla a las enzimas del cerebro y del sistema nervioso e impide su funcionamiento. El plomo se deposita en los huesos y se hace notar como una enfermedad latente, difícilmente reconocible (Palencia 2010).

### **2.2.2.1 Producción de plomo.**

La minería, la metalurgia y la transformación del plomo han sido causa, en tiempos pasados, de importantes emisiones, la mayor parte de ellas en forma de residuos sólidos. Las fuentes móviles siguen siendo la principal fuente de emisión y de contaminación de aire, agua y suelo en muchos países, mientras que, en otros en los que la gasolina con plomo ha sido prohibida, aún existen suelos contaminados por el uso anterior de aquella. Aunque las pinturas a base de plomo tienden a desaparecer, sus residuos, procedentes de viejas construcciones o aplicaciones especiales, siguen representando una fuente de contaminación de los suelos y de las aguas de relativa importancia (UNIPLOM 2004).

El plomo es removido del aire por la lluvia y por partículas que caen al suelo a aguas de superficie. Entonces, el suelo se contamina por la adherencia de este material a sus partículas. La principal fuente de contaminación del suelo es la pintura que por desgaste se desprende de edificios y otras estructuras. La contaminación del agua se da por los vertimientos de aguas residuales que contienen desechos de plomo derivados de la industria. Así mismo por partículas contaminadas del suelo que son arrastradas hacia las fuentes de agua (Molina *et al.* 2010).

### **2.2.2.2 Efectos del plomo en la fisiología de la planta.**

Las plantas reaccionan ante la presencia de cualquier agente extraño, dependiendo de la forma química en el que se encuentren, siendo el acetato de plomo, el cloruro de plomo y el nitrato de plomo sustancias químicas solubles en agua afectan el crecimiento y productividad de muchas plantas. Las plantas tienen la habilidad de captar, extraer y acumular elementos esenciales y no esenciales del suelo en la raíz, el tallo y las hojas, formando compuestos y almacenándolos en la pared celular y la vacuola. Existen evidencias que el secuestro vacuolar de iones metálicos en las plantas previene la circulación del metal en el citosol (Volke *et al.* 2005).

Las altas concentraciones de plomo alteran procesos bioquímicos y fisiológicos de las plantas, dañan las membranas de las células, reduce la transpiración, impide la síntesis de proteínas, daña e inhibe la fotosíntesis, altera la actividad de varias enzimas, causando un daño irreparable a la raíz y el crecimiento de la planta. La mayor concentración de plomo captado por las plantas permanece en la raíz, esta zona constituye la entrada principal de plomo en plantas superiores (Enger y Smith 2006).

Los metales viajan desde la raíz hasta la xilema, y la fuerza que mueve esta solución es el proceso de osmosis cuyo desarrollo exige de una diferencia de concentración entre la parte superior de la planta, donde es mayor, y la parte inferior de la misma. Además, entre ambas se da un potencial hídrico favorable al impulso ascendente hacia las hojas, en razón a lo cual, los iones libres siguen la corriente de la transpiración (Atici *et al.* 2003).

### **2.2.3. Bioacumulación de contaminantes.**

Es bien conocido que los contaminantes presentes en el aire, agua, suelo y sedimentos emigran al interior de los organismos (plantas, invertebrados, peces, aves, mamíferos, etc.) y que pueden pasar de un organismo a otro, con el resultado frecuente de altas concentraciones en los niveles tróficos superiores. Ciniéndonos a los ecosistemas acuáticos, ya en los años 1960 se puso en

evidencia que algunos contaminantes se almacenaban en el pescado en concentraciones muy superiores a las presentes en el medio acuático (Figueruelo y Marino 2004).

Por bioacumulación se entiende la acumulación, valga la redundancia, de un contaminante en un organismo o una comunidad biológica debida a la captación directa desde el agua y/o por ingestión. El término se emplea para describir tanto los procesos dinámicos de la acumulación como el resultado final de la misma en el organismo. La parte de bioacumulación resultante del reparto directo del contaminante entre las fases acuosas y biológicas recibe el nombre de bioconcentración, siendo las agallas u otros tejidos en contacto con el agua la vía de ingreso del contaminante en el organismo. Cuando la bioacumulación se produce por ingestión de alimentos contaminados se habla de biomagnificación (Figueruelo y Marino 2004).

La bioacumulación es una de las propiedades intrínsecas importantes de las sustancias químicas que determinan el potencial de peligro para el medio ambiente. La bioacumulación de una sustancia en un organismo no supone un peligro por si misma pero la bioconcentración y la bioacumulación entrañará una carga corporal que podrá o no conducir a efectos tóxicos (OCDE 1998).

La bioconcentración se define como el resultado neto de la absorción, transformación y eliminación de una sustancia en un organismo, como consecuencia de una exposición por vía acuática; mientras que la bioacumulación engloba todas las vías de exposición (aire, agua, sedimentos/suelo y alimentos). Por último, la biomagnificación se define como la acumulación y la transferencia de sustancias a través de la cadena alimenticia, produciéndose un aumento de las concentraciones internas en los organismos situados en los niveles más altos de la cadena trófica (Basantes y Chasipanta 2012).

Los valores de acumulación de un material a partir de su fase acuática, indica la tendencia de una sustancia a la bioacumulación. Los valores bajos indican un potencial de bioacumulación reducido y los valores altos, un potencial elevado (Naciones Unidas 2005).

El término “bioacumulativo” se usa para enfatizar la diferencia entre un indicador ecológico y un indicador de polución y la presencia o ausencia de quienes dan una indicación del hábitat o calidad ambiental. Aquellos que acumulan contaminantes de sus alrededores o a través de sus alimentos o ambos, los almacenan en sus cuerpos, de manera que cuando se analizan sus tejidos, se pueden estimar las concentraciones de esas sustancias en el ambiente (Hellowell 1986).

#### **A. Características de plantas como bioindicador**

Según Hellowell (1986), los atributos deseables de un bioindicador acumulador ideal son los siguientes:

- Todos los individuos de una especie indicadora deben tener la misma correlación entre la concentración del contaminante en sus tejidos y el promedio de esta concentración en el ambiente, en todos los lugares.
- La especie no debe morir al verse sometido a varios niveles de contaminación que se encuentra en el ambiente.
- El organismo debe ser sedentario y de ciclo de vida largo para asegurar que esté relacionada al área de estudio.
- La especie tiene que ser abundante en todos los lugares y es necesario que tenga una amplia distribución, para hacer comparaciones entre áreas.
- Deben ser fácilmente cultivables en laboratorio, lo cual también ayuda en estudios experimentales relacionados de sus respuestas a poluente y observaciones de campo

Según Kumar (2013), la retención de metales pesados en la biosorción se debe a diferentes mecanismos que explican la retención de los iones metálicos entre los que tenemos:

- Complejación: el metal se une a los centros activos de la pared celular mediante enlaces químicos formando determinados complejos.

- Adsorción física: la unión entre la superficie del sorbente y el metal se produce por fuerzas de atracción electrostática,
- Intercambio iónico: propio de los iones metálicos divalentes que se intercambian con los iones propios de los polisacáridos.
- Quimiosorción: la unión entre el sorbente y el metal se produce por enlaces químicos mediante el intercambio de electrones.
- Precipitación: se asocia a un mecanismo de defensa de algunos microorganismos, los cuales pueden producir sustancia que precipitan los elementos tóxicos

Según Diego (2012), la biosorción esta principalmente influenciada por tres clases de factores: las propiedades del contaminante entre las que tenemos la valencia radio del ion, y tamaño, parámetros físicos químicos y condiciones del medio como temperatura, pH, fuerza iónica al igual que las propiedades del biomaterial.

#### **2.2.4. Translocación**

Es el cociente entre la concentración del metal en los órganos aéreos y la raíz (Olivares y Peña 2009). Factores de translocación mayores a 1, sugieren gran capacidad para transportar metales desde las raíces a los órganos aéreos, explicada en su mayor parte por eficientes sistemas de transporte de metales y, probablemente, por secuestro de metales en las vacuolas de las hojas y en el apoplasto (Lasat *et al.* 2000). En cambio, las plantas no acumuladoras tienen una más alta concentración de metal en raíces que en hojas y tallos (Baker 1981).

De acuerdo con Deng (2004), un valor del Factor de Translocación mayor a 1, indica eficiente translocación del metal a brotes, por lo que la planta puede usarse con fines de Fito-extracción. Si, por el contrario, dicho valor es menor a 1, la translocación del metal es baja, por lo que éste es retenido principalmente en las raíces y puede usarse para Fito-estabilización.

### **2.2.5. Piña (Ananas comosus)**

La piña es un herbácea perenne cuya inflorescencia da origen a la fruta, después de su maduración la planta desarrolla varios brotes capaces de producir otros frutos. Al llegar a su adultez la planta llega a medir entre 1-2 m de altura y 1-2 m de ancho inscrita en forma de trompo (Garcidueñas 2013).

Garcidueñas (2013) clasifico la morfología de la piña según:

- Tallo: Forma de bastón que puede llegar a medir hasta 50 cm de longitud, su parte aérea es recta y erecta al venir de la corona, pero este se curva cuando viene de un hijuelo o retoño.
- Hojas: número promedio va entre 40-80, son sésiles, semirrígidas y espinosa, son de color verde oscuro, son resistentes a la ruptura.
- Raíces: las raíces primarias mueren después de la germinación dando lugar a raíces adventicias fuertes y de limitada ramificación.
- Inflorescencia y fruto: la inflorescencia se desarrolla a partir del meristemo apical, tiene alrededor de 200 flores. La fruta se compone de los ovarios de las flores.
- Corona: es la que corona el fruto con un aproximado de 150 hojas cortas y resistentes.

#### **A. La piña como bioindicador**

La piña es una fruta que se siembra en pH ácido con carga positiva generando las características de un biosorbente de plomo. Tamay (2019), en su investigación demostró que la piña como biosorbente tiene la capacidad de biosorción y desorción de los iones metálicos de los metales plomo y cobre, esto también debido a que posee fuerzas de atracción de cargas, debido al pH óptimo que determina como bioindicador.

La posible vía del transporte de plomo a través de la membrana es a través de la absorción de los cationes a través de la raíz reteniendo las cargas negativas del

plomo quedando dentro de la raíz debido a su capacidad atracción ionica (Garcia 2006).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODO

#### 3.1. Ubicación geográfica de la investigación.

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, la cual está localizada en las coordenadas UTM 17 9207041 E y 776619 W, y a una altitud de 2750 m.s.n.m. en el departamento de Cajamarca, Perú.

#### 3.2. Materiales.

##### 3.2.1. Material biológico

Plántulas *in vitro* de piña (*Ananas comosus* (L.) Merrill), procedentes del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Biotecnología Vegetal (Anexo 1).

##### 3.2.2. Soluciones

Medio de cultivo Murashige & Skoog, 1962 y medio MS, 1962 modificado por Buendía-Gonzales (Tabla 1).

**Tabla 1.** Elementos del Medio de cultivo Murashige & Skoog, 1962, modificado por Buendía-Gonzales *et al.* 2010.

Macro elementos	g.L <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.65
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.	0.37
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O.	0.44
Micro elementos	Mg. L <sup>-1</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .	6.2
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O.	22.30
NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O.	0.25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O.	0.025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O.	0.025
SACAROSA	10 g.L <sup>-1</sup>

Solución de nitrato de plomo [Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] a 10000ppm, soluciones reguladoras de pH: HCl 0.1N y NaOH 0.1 N, alcohol etílico 90 %, hipoclorito de sodio.

### **3.2.3. Materiales de laboratorio**

Mandil, pinzas, bisturíes, algodón hidrofílico, papel aluminio, Material de vidrio (Tubos de ensayo, Matracas, frascos), Guantes, Mascarilla.

### **3.2.4. Materiales de oficina**

Marcadores de vidrio, lapiceros, papel bond, laptop, cámara fotográfica, cuaderno de apuntes.

## **3.3. Metodología**

### **3.3.1. Trabajo de Laboratorio**

#### **3.3.1.1. Fase pre experimental:**

Las plántulas *in vitro* de piña, procedentes del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Biotecnología Vegetal, fueron convenientemente clonadas en medio de cultivo Murashige & Skoog, 1962 de consistencia líquida (Tabla 1), depositado en frascos de vidrio de boca ancha y 230 mL. de capacidad (frascos mostaceros). Cada frasco contuvo 30 mL. de medio de cultivo con pH regulado a 5.6 y debidamente esterilizados con calor húmedo (121°C por 20 minutos).

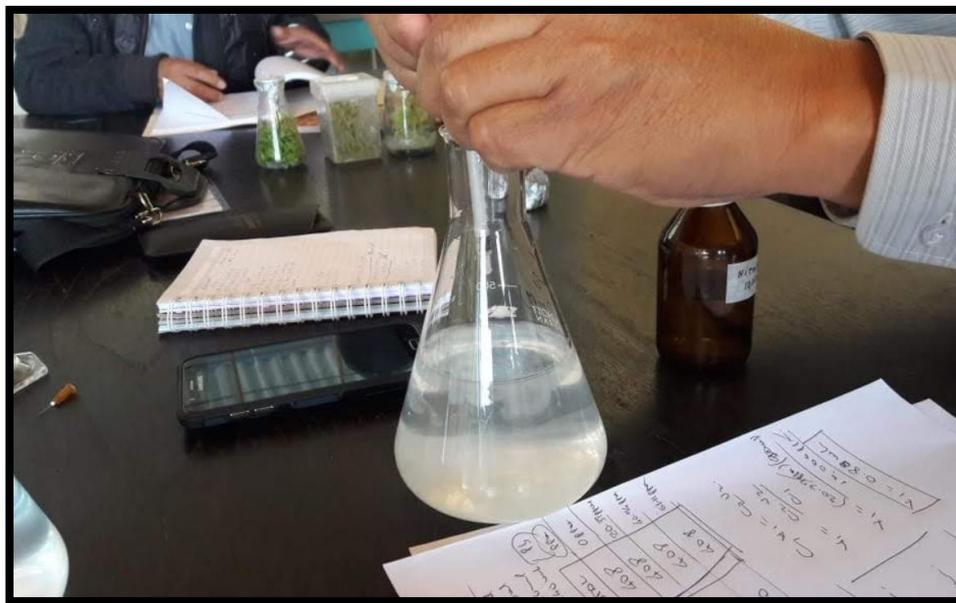


**Figura 1.** Plántulas de piña en el medio de cultivo.

Las plantas *in vitro* recibidas del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Biotecnología Vegetal, tuvieron sesenta días de edad, mostraron un aspecto vigoroso y formaron matas, las cuales fueron asépticamente subdivididas e inmediatamente sub cultivadas en el medio MS, 1962 de consistencia líquida. Posteriormente, los cultivos fueron Incubados a 25°C, fotoperiodo largo (16h luz/8 h oscuridad) y 2000 lux de intensidad lumínica. Bajo estas condiciones la población original de plántulas fue significativamente incrementada. Finalmente, cuando las plántulas *in vitro* registraron una altura promedio de 2 cm, se procedió a seleccionarlas en base a su altura (2 cm), aspecto externo (vigorosas), biomasa radicular (2 cm de longitud) y número de hojas (3 a 4). De esta manera se logró conformar una población compuesta por 80 plántulas, con las cuales se inició la fase experimental.

### 3.3.1.2. Fase experimental:

a) **Preparación de la solución concentrada de plomo:** Haciendo uso de agua destilada estéril, como solvente, se disolvió 1 gramo de nitrato de plomo [Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] a fin de obtener una solución concentrada de 1 000 ppm Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.



**Figura 2.** Preparación de la solución concentrada de plomo

**b) Preparación de medios de cultivo (tratamientos):** Dos días antes de la siembra *in vitro*, se preparó 1000 mL de medio MS, 1962, modificado por Buendía-Gonzales (Tabla 1), de consistencia líquida, con pH regulado a 5.6. Este volumen de medio de cultivo fue compartido en 4 partes de 250 mL, cuyos constituyentes fueron complementados con plomo en las concentraciones especificadas en la Tabla 2.



**Figura 3.** Preparación de medio de cultivo.

**c)** Cada una de las cuatro partes de medio de cultivo MS 1962, modificado por Buendía-Gonzales, conteniendo un determinado nivel de plomo (tratamientos) fue depositado en matraces de 250 mL de capacidad, debidamente identificados, herméticamente tapados con papel aluminio y esterilizados en autoclave a 121°C por 15 minutos.



**Figura 4.** Matraces con determinado nivel de plomo

**d) Sustitución de medios de cultivo:** Bajo condiciones de estricta asepsia, los medios de cultivo MS, 1962 que sustentaron el crecimiento y desarrollo de las plántulas de piña en la fase pre experimental, fueron sustituidos con un volumen semejante (30 mL/envase) medio de cultivo MS 1962 modificado por Buendía-Gonzales, conteniendo los niveles de plomo señalados en la Tabla 2.



**Figura 5.** Sustitución de medios de cultivo

**e)** Realizada la sustitución de medios de cultivo, los envases conteniendo a las plántulas de piña, fueron Incubados en la cámara de crecimiento con una temperatura regulada a 25°C, fotoperiodo de 16h luz/8 h oscuridad y 2000 lux de intensidad lumínica.



**Figura 6.** Plántulas incubadas en la cámara de crecimiento

f) Análisis químico de las plántulas *in vitro*: Antes de la sustitución de medios de cultivo y al término de la fase experimental las cuales tuvieron un tiempo de exposición de sesenta días, se tomaron muestras representativas de plántulas *in vitro* de Piña a fin de someterlas a un análisis químico en un laboratorio acreditado para evidenciar su contenido de plomo.

### 3.3.1.3. Tipo de investigación

Experimental, porque el estudio consiste en hacer variar la variable independiente para ver si también varía la variable dependiente (Cazau 2006).

### 3.3.1.4. Factores y sus niveles considerados para el estudio

**Tabla 2.** Factores, niveles considerados para el estudio.

FACTORES DE TRATAMIENTO EN ESTUDIO			
Nº	NIVELES	Concentración de nitrato de plomo en el medio de cultivo	Concentración de plomo en el medio de cultivo
1	C <sub>0</sub>	0.0 ppm.	0.0 ppm
2	C <sub>1</sub>	496.8 ppm.	310.77 ppm
3	C <sub>2</sub>	993.6 ppm.	621.54 ppm
4	C <sub>3</sub>	1490.4 ppm.	932.31 ppm

### 3.3.1.5. Diseño experimental

Diseño Completamente Randomizado, con cuatro niveles de concentración y ocho repeticiones. Cada unidad experimental conto con 2 plántulas, obteniendo la media de estas.

## 3.4. Evaluaciones:

### 3.4.1. Bioacumulación

Transcurridos 60 días de la sustitución de medios de cultivo se tomaron muestras representativas de las plántulas de cada nivel de concentración, las cuales fueron segmentadas a fin de obtener las correspondientes biomásas aérea y radicular, las cuales fueron rotuladas y enviadas, conjuntamente con los medios de cultivo que sustentaron el crecimiento de estas plántulas, al laboratorio de R-Lab. S.A.C., Laboratorio acreditado por el INACAL.

En este laboratorio las muestras fueron procesadas por el método SMEWW – APHA – AWWA – WEF Part. 3030 E, 3030 B y 3111 B. 23rd Ed. Quince días después se obtuvieron los resultados de la bioacumulación de plomo en ambas biomásas de los distintos niveles de concentración.

### **3.4.2. Factor de translocación**

Con los datos obtenidos de contenido de plomo en la biomasa aérea y radicular de las plántulas regeneradas en cada nivel de concentración de plomo. Se calculó el FT, según lo establecido por Niu *et al.* (2007) y Zhao *et al.* (2003):

$$TF = \frac{\text{Metal pesado en el tallo}}{\text{Metal pesado en la raíz}}$$

### **3.4.3. Morfología de plántulas:**

En comparación con las plántulas de la concentración testigo a los 60 días de la sustitución de los medios de cultivo, se registró todo tipo de formas y pigmentación atípica presentadas por las plántulas regeneradas en cada nivel de concentración de estudio.

### **3.4.4. Índices del crecimiento**

#### **3.4.4.1. Relación de Crecimiento**

Al final de la fase experimental, esto fue a 60 días de exposición de las plántulas de piña a las diferentes concentraciones de plomo en el medio de cultivo, se determinaron los pesos frescos y secos de la biomasa aérea y radicular de una muestra compuesta. Con estos resultados, se Calculó la relación de crecimiento (RC), según lo establecido por Baker (1987):

$$RC = \frac{\text{Biomasa de la planta bajo el efecto del metal pesado}}{\text{Biomasa de plántula sin efecto del metal pesado (plántula testigo)}}$$

#### **3.4.4.2. Índice de tolerancia del plomo (IT)**

Con la ayuda de una regla milimétrica se tomaron los datos de largo de raíz

o distancia comprendida entre el cuello de plántula y el ápice de la raíz adventicia más larga. Asimismo, Con estos datos se calculó el índice de tolerancia, según lo establecido por Baker (1987):

$$IT = \frac{\text{Longitud de la raíz de la plántula bajo el efecto del metal pesado}}{\text{Longitud de raíz de la plantula sin efecto del metal pesado}}$$

### 3.5. Análisis estadístico.

El análisis de regresión lineal simple es una técnica estadística utilizada para estudiar la relación entre variables, en el contexto de la investigación se utilizó para estimar la bioacumulación a partir del nivel de concentración de Pb en el medio de cultivo (Carollo y Pateiro 2012).

Si la relación es no lineal, los datos observados se distribuyen alrededor de una curva y la ecuación de esa curva se determina a partir de alguno de los modelos no lineales. El modelo de regresión polinomial es una alternativa cuando el modelo lineal no logra un coeficiente de determinación apropiado (Cardona *et al.* 2014).

Según Gómez y Gómez (1984), cuando el R<sup>2</sup> es mayor de 0.60 es suficiente para considerar significativo, para conocer el efecto en bioacumulación y translocación; para esto se utilizó el programa Microsoft Excel.

Luego se contempló el análisis de la varianza, para las otras variables, de acuerdo al procedimiento establecido para el diseño completamente randomizado, con un nivel de significancia de 0.05 el esquema se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3.** Análisis de varianza para los datos

F.V.	SUMA DE CUADRADOS	G L	CUADRADO MEDIO	F-VALOR	Pr > F
NIVELES DE CONCENTRACIÓN	Ayy	3	M <sub>1</sub>	M <sub>1</sub> /M <sub>2</sub>	
ERROR	Eyy	28	M <sub>2</sub>		

---

TOTAL	Gyy	31
-------	-----	----

---

F es el valor tabular que se encuentra en la tabla de F de Snedecor, considerando los grados de libertad de tratamientos y los grados de libertad del error.

Se compara el valor F calculado con el valor de F tabular, y decide sobre la significancia de las diferencias entre tratamientos, usando las reglas siguientes: si el valor de F calculado es mayor que el valor de F tabular al nivel de significación del 0,05, la diferencia de tratamientos es altamente significativa.

El esquema del análisis de varianza para determinar diferencias entre niveles de concentraciones se realizó a través de la prueba de Duncan, usando SAS v. 9.0.

Hipótesis estadística:

$H_0: t = t_i$  (todas las concentraciones producen el mismo efecto)

$H_1: t \neq t_i$  para al menos un  $i$ ;  $i = 1, 2, \dots, t$  (al menos una de las concentraciones produce efectos distintos).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los datos de la investigación se presentan mediante tablas, medias y gráficos con sus respectivas interpretaciones

#### 4.1. Bioacumulación

El resultado obtenido respecto a la concentración de plomo en la biomasa aérea y radicular muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Bioacumulación en la biomasa aérea y radicular con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

TRATAMIENTOS		Bioacumulación	Bioacumulación
Clave	Concentración plomo (ppm)	aérea(ppm)	radicular(ppm)
C <sub>0</sub>	0.0	0.0	0.0
C <sub>1</sub>	310.8	4793.0	13379.8
C <sub>2</sub>	621.5	11519.0	23811.0
C <sub>3</sub>	932.3	13961.0	23926.0

De la tabla en mención se puede apreciar el nivel de concentración de plomo en la biomasa aérea y radicular de la plántula de piña en los tratamientos donde se aplicó el plomo y en la plántula testigo no, debido a que no se aplicó plomo. Los valores tienen variación dependiente del nivel de concentración, esto significa que a mayor concentración en el medio de cultivo mayor concentración en la biomasa encontrándose en mayor cantidad en la C<sub>3</sub>.

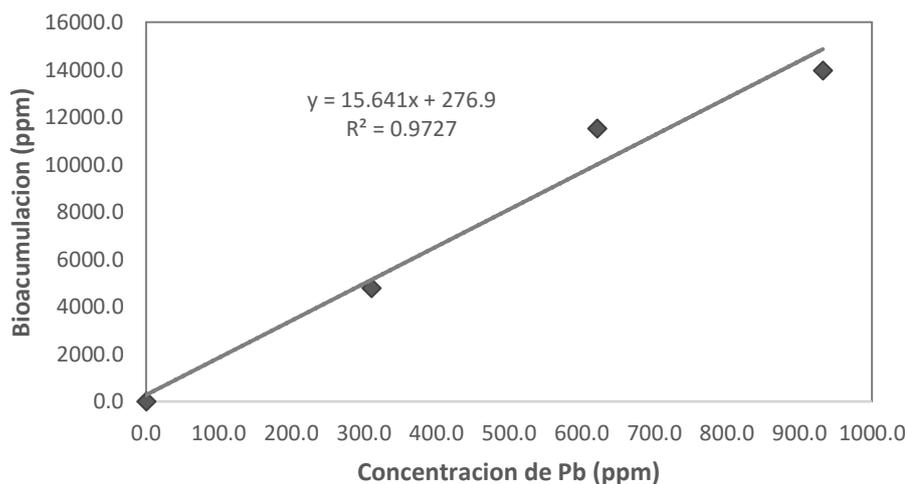
En la tabla 4. Podemos observar que existe bioacumulación esto debido a la atracción que posee la piña como biosorbente eficiente para la remoción de iones metálicos, además que a mayor cantidad de este la fuerza de atracción en la solución será mayor, determinado también por el pH ácido que favorece la adición de iones metálicos en la piña (Tamay 2019).

Se observó que existe mayor acumulación en la parte radicular de la plántula, esto se debe a que el plomo se mueve predominante dentro del apoplasto de la raíz en una forma radial a través del córtex y se acumula cerca de la endodermis. La endodermis actúa como una barrera parcial al movimiento de plomo entre la

raíz y la parte aérea. Es por eso que se presenta mayor acumulación en la raíz comparado con los otros órganos de la planta (Garcia 2007)

Trabajos realizados en otras especies como *Prosopis laevigata*, como acumuladora de metales pesados mencionan que hubo mayor acumulación en raíces que en tallos (Rodríguez 2016). Sin embargo, algunas especies poseen un sistema interno muy específico que consiste en bombear metales de los tejidos radicales hacia la parte aérea, *Brassica juncea* L. fue reportada como especie que acumula grandes niveles de cadmio en sus órganos aéreos (Delgado 2014).

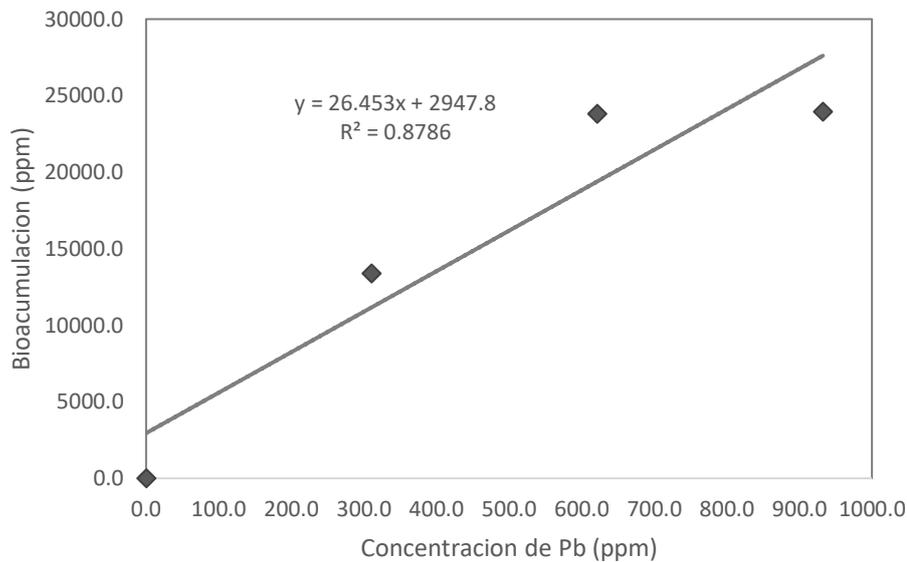
Para conocer el comportamiento de la bioacumulación de plomo en la biomasa aérea y radicular de plántulas de pino en cada una de las concentraciones de plomo estudiadas se usó el análisis de regresión, que se presenta en Figura 7 y Figura 8.



**Figura 7.** Bioacumulación en la biomasa aérea con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados.

La Figura 7 muestra un comportamiento lineal significativo ( $R^2$  mayor de 0.60) de la bioacumulación de plomo en la biomasa aérea, con respecto al nivel de concentración en el medio de cultivo esto significa que a medida que incrementa la unidad de Pb en el medio de cultivo, incrementa la bioacumulación de Pb en la plántula de pino de forma lineal en 15.64.

Comparando los resultados de la figura 7 con Hoyos y Guerrero (2014), mencionan que la bioacumulación de Pb en la biomasa aérea de *B. oleracea subsp. capitata* (L.) tiene una relación direccional ascendente con las soluciones concentradas de los diferentes tratamientos mostrando mayor bioacumulación en el tratamiento sometido a soluciones de 100 y 300 mg/L.



**Figura 8.** Comportamiento de la media de bioacumulación en la biomasa radicular con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados.

La Figura 8 muestra un comportamiento lineal significativo ( $R^2$  mayor de 0.60) de la bioacumulación de plomo en la biomasa radicular, con respecto al nivel de concentración en el medio de cultivo, esto significa que a medida que incrementa una unidad de Pb en el medio de cultivo, incrementa la bioacumulación de plomo de forma lineal en 26.45.

Los resultados de la Figura 8 comparados con Hoyos y Guerrero (2014) quienes mencionan que la bioacumulación de Pb en la biomasa de *R. sativus* L. muestran una relación lineal ascendente en la biomasa radicular de los diferentes tratamientos sometido a soluciones de 100 y 300 mg/L.

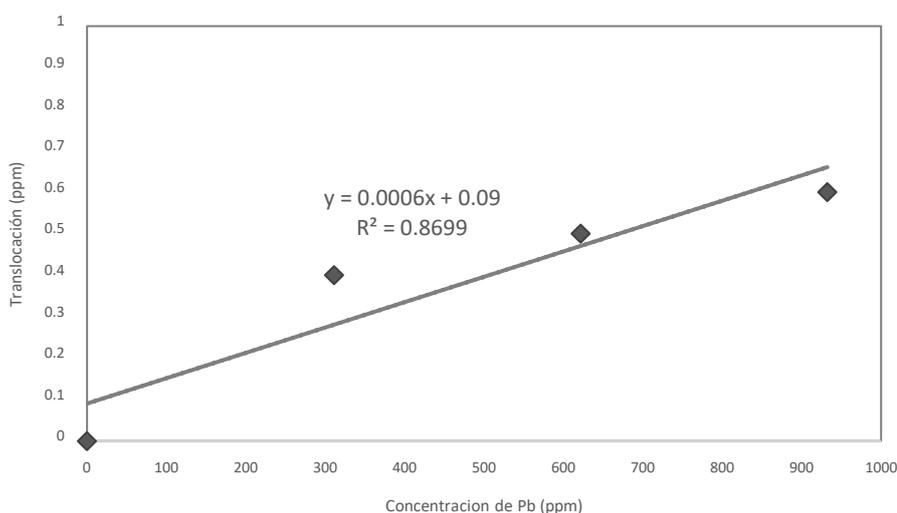
## 4.2. Factor de translocación

Los resultados obtenidos respecto al factor de translocación se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Factor de translocación de plomo en las plántulas de piña, por nivel de concentración de plomo estudiados.

TRATAMIENTOS		Factor de translocación
Clave	Concentración plomo (ppm)	
C <sub>0</sub>	0	0
C <sub>1</sub>	310.8	0.4
C <sub>2</sub>	621.5	0.5
C <sub>3</sub>	932.3	0.6

La Tabla 5 muestra que el factor de translocación es menor a 1. Esto debido a que el plomo es restringido principalmente en las vacuolas de las raíces o rizosfera restringiendo su translocación hacia el tallo (Baker 1981). Según Knecht *et al.* (1994) esto podría deberse a que el metal tiende a unirse a fitoquelatinas formando un complejo molecular pesado por el compuesto del plomo el cual permanece mayormente en la parte radicular y solo pequeñas concentraciones de plomo es transportada a la parte aérea de la planta



**Figura 9.** Comportamiento de la media del factor de translocación con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

La Figura 9 muestra un comportamiento lineal significativo ( $R^2$  mayor de 0.60) de translocación con respecto al medio de cultivo, esto significa que a medida que incrementa una unidad de plomo en el medio de cultivo, incrementa el factor de translocación de forma lineal en 0.0006, esto debido a la capacidad iónica de la planta (Delgado 2014)

En *Amaranthus hybridus L.* la concentración de plomo se daba tanto en hojas como en tallo y raíz conforme aumenta la edad de la planta (Ortiz *et al.* 2007). El “tomate” fue reportado como especie que acumula cadmio en sus órganos aéreos el cual es considerado un cultivo tolerante a este metal. Es así que la distribución de los iones metálicos varía considerablemente dependiendo de las especies vegetales, el tiempo de exposición y de los iones metálicos (Delgado 2014).

#### 4.3. Variaciones del patrón morfológico

En las plántulas expuestas a los diferentes tratamientos se observaron una serie de alteraciones morfológicas que incluyen clorosis, la cual se clasifico según los colores establecido por el Centro de visión por computador de la Universidad Autónoma de Barcelona.



**Figura 10.**Morfología de plantula de piña  $C_0$

- Observación: en la  $C_0$  con 0ppm de plomo se muestra hojas maduras y tamaño normal, un color verde oscuro, raíces de tamaño normal, no muestra necrosis en la hoja y tampoco en las raíces con un promedio de 29 hojas y 5 ramificaciones

 <p><b>Figura 11.</b>Morfología de plantula de piña C<sub>1</sub></p>	<p>➤ Observación: C<sub>1</sub> con 310.77 ppm de plomo se observa hojas que presentan un color verde, se empieza a notar menor cantidad de hojas y raíces; no muestra necrosis en la hoja y tampoco en las raíces, con un promedio de 16 hojas y 4 ramificaciones</p>
 <p><b>Figura 12.</b>Morfología de plantula de piña C<sub>2</sub></p>	<p>➤ Observación: C<sub>2</sub> con 621.54 ppm de plomo, las hojas presentan un color verde lima, se empieza a notar menor cantidad de hojas y raíces, empieza a ver necrosis en las raíces, con un promedio de 12 hojas y 2 ramificaciones.</p>
 <p><b>Figura 13.</b>Morfología de plantula de piña C<sub>3</sub></p>	<p>➤ Observación: C<sub>3</sub> con 932.31 ppm de plomo, las hojas presentan un color verde claro, y algunas hojas muestran color amarillo pálido, se nota necrosis de hojas y raíces, también baja cantidad de hojas y raíces pequeñas, con un promedio de 9 hojas y 1 ramificación.</p>

El plomo a mayor concentración produjo clorosis, crecimiento débil de las plantas, cantidad radicular, así mismo el crecimiento y cantidad de biomasa aérea. Se observó necrosis en las raíces en C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>. El plomo reduce la producción de clorofila a, dificultando la absorción de los elementos esenciales

como Mg y Fe por parte de las plántulas, la degradación de las clorofilas se debe al incremento de la actividad de la clorofilasa, esto ocasiona que la clorofila b se reconvierta en clorofila a, debido a que estos pigmentos son esenciales para la absorción de la energía de la luz reduciendo el CO<sub>2</sub> (Franco 2010).

La necrosis observada en raíces y hojas se debería a la alteración de la función de la membrana plasmática, la cual trae como consecuencia su degradación, pérdida de compartimentación celular y como síntomas finales apoptosis y necrosis (García 2007). Lo mismo ocurrió con los reportes de Panich (2005), que manifiesta que a medida que aumentan los días el plomo se va acumulando cada vez más alrededor de las vacuolas y la pared celular, llegando al final a dañar a esta.

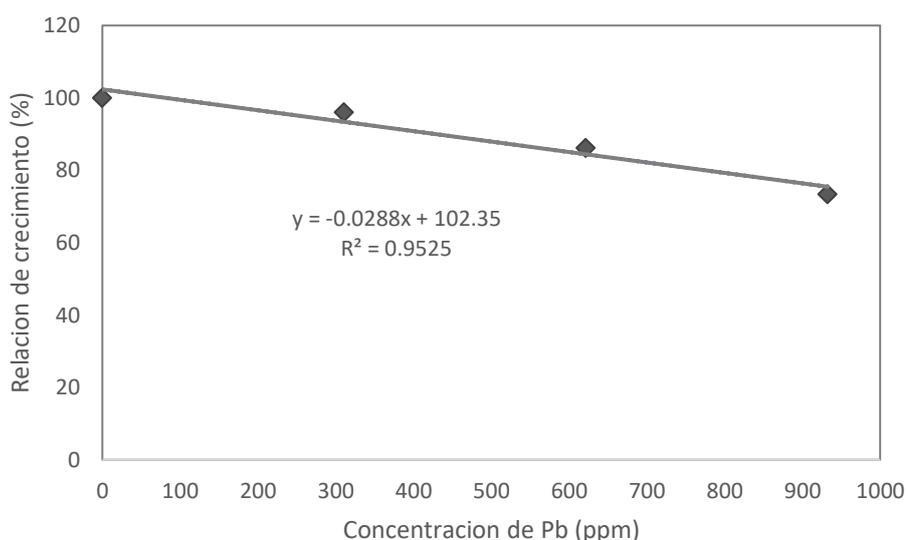
#### 4.4. Índices del crecimiento

##### 4.4.1. Relación de Crecimiento

Los resultados obtenidos respecto a la relación de crecimiento en el peso húmedo se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Resultado de la relación de crecimiento con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

Clave	Tratamientos		Relación de crecimiento	Porcentaje de la relación de crecimiento (%)
	Concentración plomo (ppm)			
C <sub>0</sub>	0		1	100
C <sub>1</sub>	310.77		0.96	96
C <sub>2</sub>	621.54		0.86	86
C <sub>3</sub>	932.31		0.73	73



**Figura 14.** Comportamiento de la relación de crecimiento en el peso húmedo de la planta, con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

La Figura 14 muestra que hay un comportamiento de regresión lineal significativo ( $R^2$  mayor de 0.60) de la relación de crecimiento de plomo en la biomasa, esto significa que a medida que incrementé una unidad en el medio de cultivo, las plántulas de piña en su relación de crecimiento disminuyen de manera lineal en 0.03.

Para conocer el comportamiento de la relación de crecimiento en el peso húmedo de plántulas de piña se usó el análisis de varianza, que se presenta en Tabla 8.

**Tabla 8.** Análisis de varianza en la relación de crecimiento en el peso húmedo con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	DE G L	CUADRADO MEDIO	F-VALOR	Pr > F
NIVEL	0.337	3	0.112	25.28	<.0001
ERROR	0.124	28	0.004		
TOTAL	0.461	31			

C.V. =7.50

La tabla 8 muestra que existe suficiente evidencia muestral a un nivel de significancia de 0.05 para rechazar la  $H_0$ . Afirmando que hay diferencia significativa en su efecto medio en la relación de crecimiento de los demás niveles estudiados.

Para saber cual de los niveles es diferente entre si, se procedio con el metodo de comparacion multiple de medias

**Tabla 9.** Comparación de medias mediante prueba de Duncan en la relación de crecimiento en el peso húmedo, respecto a los niveles de concentración de Pb.

NIVEL DE CONCENTRACIÓN	AGRUPAMIENTO	MEDIA	N
C0	A	1.00	8
C1	A	0.96	8
C2	B	0.86	8
C3	C	0.73	8

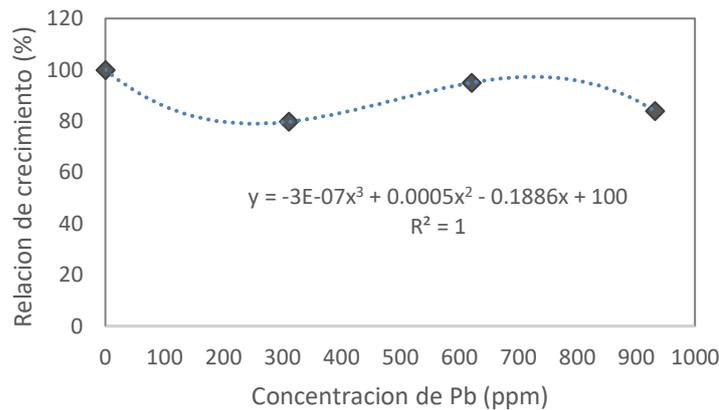
\*medias con la misma letra no tiene diferencia significativa

La prueba de Duncan muestra que hay diferencia significativa entre los niveles de C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>, esto con respecto al nivel de C<sub>0</sub>.

Los resultados obtenidos respecto a la relacion de crecimiento del peso seco con respecto a los niveles de concentracion de plomo estudiados

**Tabla 10.** Resultado de la relación de crecimiento con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

Tratamientos		Relación de crecimiento	Porcentaje de la relación de crecimiento (%)
Clave	Concentración plomo (ppm)		
C0	0.00	1.00	100
C1	310.77	0.80	80
C2	621.54	0.95	95
C3	932.31	0.84	84



**Figura 15.** Comportamiento de la relación de crecimiento en el peso seco de la planta, con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

En la Figura 15 el resultado muestra un ajuste del modelo cuadrático ( $R^2$  mayor de 0.60).

Para conocer el comportamiento de la relación de crecimiento en el peso húmedo de plántulas de piña se usó el análisis de varianza, que se presenta en Tabla 11.

**Tabla 11.** Análisis de varianza en la relación de crecimiento en el peso seco con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	DE G L	CUADRADO MEDIO	F-VALOR	Pr > F
NIVEL	0.21	3	0.07	3.12	0.0420
ERROR	0.64	28	0.02		
TOTAL	0.85	31			

C.V. =16.86

La tabla 11 muestra que existe suficiente evidencia muestral a un nivel de significancia de 0.05 para rechazar la  $H_0$ . Afirmando que hay diferencia significativa en su efecto medio en la relación de crecimiento de los demás niveles estudiados.

Para saber cual de los niveles es diferente entre si, se procedio con el metodo de comparacion multiple de medias

**Tabla 12.** Comparación de medias mediante prueba de Duncan en la relación de crecimiento en el peso seco, respecto a los niveles de concentración de Pb.

NIVEL DE CONCENTRACIÓN	AGRUPAMIENTO	MEDIA	N
C0	A	1.00	8
C1	A	0.95	8
C2	B	0.84	8
C3	B	0.80	8

\*medias con la misma letra no tiene diferencia significativa

La prueba de Duncan muestra que hay diferencia significativa entre los niveles de C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>, esto con respecto al nivel de C<sub>0</sub>.

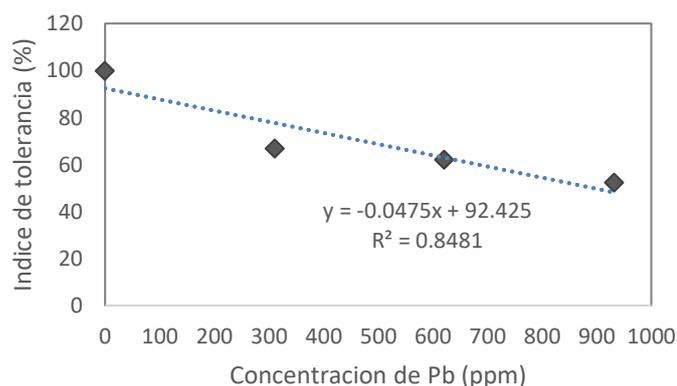
Como se aprecia en el estudio estadístico hay diferencia significativa en la relación de crecimiento, esto muestra que a diferencia del nivel de C<sub>0</sub>, los niveles con mayor concentración de plomo afecta la relación de crecimiento debido a que es menor al 100 % en comparación del nivel de C<sub>0</sub>. Estudios realizados por García (2007), en plantas *Zea mays* expuestas a Cd, Al, Cu, Ni; en concentraciones altas presentaron déficit hídrico, alterando el metabolismo de hidratos de carbono, reduciendo la producción de biomasa. Deduciendo que existe una relación directa entre la biomasa y la concentración de plomo.

#### 4.4.2. Índice de tolerancia del plomo

Los resultados obtenidos respecto al índice de tolerancia se muestran en la Tabla 13.

**Tabla 13.** Índice de tolerancia con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

Clave	Tratamientos Concentración plomo (ppm)	Índice de tolerancia	Porcentaje del índice de tolerancia (%)
C <sub>0</sub>	0.00	1.00	100
C <sub>1</sub>	310.77	0.67	67
C <sub>2</sub>	621.54	0.62	62
C <sub>3</sub>	932.31	0.52	52



**Figura 16.** Comportamiento del índice de tolerancia con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados

Como se aprecia en la Figura 16 hay un comportamiento lineal significativo ( $R^2$  mayor de 0.60) del índice de tolerancia, esto demuestra que a medida que incrementa la concentración de plomo en el medio el índice de tolerancia disminuye en 0.05

Para conocer el comportamiento del índice de tolerancia en cada una de las concentraciones de plomo estudiadas se usó el análisis de varianza, que se presenta en Tabla 14.

**Tabla 14.** Análisis de varianza en el índice de tolerancia con respecto a los niveles de concentración de plomo estudiados.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	DE G L	CUADRADO MEDIO	F-VALOR	Pr > F
NIVEL	0.45	3	0.15	2.68	0.0660
ERROR	1.58	28	0.06		
TOTAL	2.03	31			

C.V. =29,70

La tabla 14 muestra que existe suficiente evidencia muestral a un nivel de significancia de 0,05 para rechazar la  $H_0$ . Afirmando que al menos un nivel difiere en efecto en el contenido de Pb en la plantula de piña de los niveles estudiados.

Para saber cual de los niveles es diferente entre si, se procedio con el metodo de comparacion multiple de medias

**Tabla 15.** Comparación de medias mediante prueba de Duncan en el índice de tolerancia con respecto a los niveles de concentración de Pb.

NIVEL DE CONCENTRACIÓN	AGRUPAMIENTO	MEDIA	N
C <sub>0</sub>	A	1.00	8
C <sub>1</sub>	B	0.77	8
C <sub>2</sub>	B	0.73	8
C <sub>3</sub>	B	0.69	8

\*medias con la misma letra no tiene diferencia significativa

La prueba de Duncan muestra que hay diferencia significativa entre el nivel de C<sub>0</sub> en comparación con los diferentes niveles de concentración.

Como se aprecia en el estudio estadístico hay diferencia significativa en la relación de crecimiento, esto muestra que a diferencia del nivel de C<sub>0</sub>, los niveles con mayor concentración de plomo afecta el índice de crecimiento debido a que es menor al 100 % en comparación del nivel de C<sub>0</sub>. Según Llamas (2006) Esto se debe a que la toxicidad del metal en la membrana causa cambios en los componentes proteicos; alterando la absorción de elementos minerales y esenciales como el calcio, magnesio, fósforo, potasio, dando lugar a trastornos fisiológicos afectando al crecimiento de las plantas.

Estos resultados concuerdan con el estudio de capacidad de *Prosopis laevigata* estudiados a los 50 días de tratamiento mostrando un índice de tolerancia menor con respecto al tratamiento sin metal a diferencia de las plantas tratadas con plomo (Rodríguez 2016)

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La evaluación de la plántula de piña *Ananas comosus (L.) Merrill*, determino que la concentración bioacumulable de plomo registra un incremento lineal en función a su concentración en el medio de cultivo, y en menor proporción una planta translocadora; de esta manera se puede afirmar que la plántula de piña *Ananas comosus (L.) Merrill*, puede ser empleado como planta acumuladora de plomo y también fito estabilizadora

La evaluación muestra que las variaciones de bioacumulación muestran eficiencia en función de la concentración en el medio de cultivo, y mayor eficiencia en el nivel de C<sub>3</sub>.

La evaluación muestra que el factor de translocación es menor a 1 demostrando que es una planta translocadora en menor proporción.

El plomo en la plántula de piña, ocasiono efecto en el patrón morfológico de la planta como clorosis en las hojas y necrosis nivel de biomasa aérea y radicular.

Se determinó que hay una reducción lineal significativa en la relación de crecimiento.

La evaluación muestra que a mayor concentración menor índice de tolerancia.

Se recomienda realizar estudios de investigación respecto a niveles de concentración mayor, factores externos como temperatura, pH, luz, salinidad, capacidad catiónica, capacidad zeta. Que puedan influir sobre la respuesta de eficiencia de bioacumulación en *Ananas comosus (L.) Merrill*.

## CAPÍTULO VI

### BIBLIOGRAFÍA

- Albert, L. 1997. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, ed. México.
- Álvarez, R. 2007. Estadística aplicada a las ciencias de la salud. España. Ed. Días de Santos. 988 p.
- Angelova, V; Ivanova, R; Delibaltova, V; Ivanov, K. 2004. Bioacumulación y distribución de metales pesados en cultivos de fibra (lino, algodón y cáñamo). *Cultivos y Productos Industriales* 19:197-205.
- Arunakumara, K; Xuecheng, Z; Song, X. 2007. Estudio comparativo de la bioacumulación del plomo y cadmio en cianobacterias *Synechocystis sp.* *Ciencias Marinas* 33(3):271-280.
- Atici, O; Agar, G; Battal, P. 2003. Interacción entre hormonas vegetales endógenas y  $\alpha$ -amilasa en germinación de semillas de garbanzo bajo exposición a cadmio. *Boletín ambiental de Fresenius* 12:781-785.
- Baker, A.1981. Acumuladores y excluidores -estrategias en la respuesta de las plantas a los metales pesados. *Nutrición Vegetal* 3(1-4):643-654.
- Barceló, J; Poschenrieder, C. 1990. Relaciones planta agua como afectados por el estres por metales pesados: Una revisión. *Revista de Nutricion Vegetal* 13(1):1-37.
- Barceló, J; Poschenrieder, C. 2003. Phytoremediation principles and perspectives. *Contributions to Science*. Institut de Estudios Catalons. Barcelona. 13(1):1-37p.
- Basantes Aguas, SX; Chasipanta Ushiña, JE. 2012. Determinación del requerimiento nutricional del fósforo sobre la inducción floral en el cultivo de piña. Tesis Ing. Sangolquí, Ecuador, Escuela Politécnica del Ejército. 101 p.
- Bautista Zuñiga, F. 1999. Introducción al Estudio de la Contaminacion del Suelo por Metales Pesados. Yucatan, México. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. 67p
- Blaz Aponte, MJ. 2015. Efecto del plomo en el crecimiento de plántulas de *Acacia macracantha H. B. ex Will.* "espino" en condiciones de laboratorio. Tesis

Biol. Trujillo, Perú, Universidad Nacional de Trujillo.70p.

Boudou, A; Ribeyre, F. 1989. Ecotoxicología acuática: conceptos y metodologías fundamentales.1 ed. Florida, Estados Unidos. CRC Press. 328p.

Bradl, H; Kim, C; Kramar, U; Stuben, D. 2005. metales pesados en el medio ambiente: origen, interacción y remediación. 1 ed. Estados unidos, Academic Press. 282p.

Buendia-González, L; Orozco-Villafuerte, J; Estrada-Zuñiga, ME; Barrera Díaz, CE; Vernon-Carter, EJ; Cruz-Sosa, F. 2010. *In vitro* Lead and Nickel Accumulation in Mesquite (*Prosopis laevigata*) Seedlings. Revista Mexicana de Ingeniería Química 9(1):1-9.

Capelo, A; Santos, C; Loureiro, S; Pedrosa, M. A. 2012. Fitotoxicidad del plomo en *Lactuca Sativa*. Efectos sobre el Crecimiento, la Actividad Fotosintética de la Nutrición Mineral y el Metabolismo Oxidante 21:450-459.

Cardona, D; Gonzales, J; Rivera, M; Cárdenas, E. 2014. Estimación y predicción con el modelo de regresión cubica aplicado a un problema de salud. Ingeniería Solidaria. Vol. 10, n° 17, pp. 153-160.

Carmen, M; Pateiro, B. 2012 Extensiones del modelo de regresión. Estadística. FBA I. Universidad de Santiago de Compostela. 13 p.

Casale, L; De Garcia, E. 1987. Multiplicación clonal acelerada de tres variedades de piña (2):3-18.

Castañeda de Pretelt, P. 2003. Manual técnico: seminario sobre producción y manejo post cosecha de la piña para la exportación. San Salvador, Panamá, Ministerio de Desarrollo Agropecuario. 69p.

Cazau, P. 2006. Introducción a la investigación en ciencias sociales. 3 ed. Buenos Aires, Argentina. 194p.

CENAN, 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos. 8 ed. Lima, Perú, Ministerio de Salud. 70p.

CONAFRUT (Consortio Agrario Frutícola). 1981. El mercado exterior fruticola. Boletín Bimestral 5:17.

De Knecht, J; Van Dillen, M; Koevoets, P; Ernst, W. 1994. Phytochelatins in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*. *Plant physiol.* 104: 695-

702.

De la Fuente, S. s. f. Análisis de varianza. Facultad de Ciencias Económicas. Madrid. 103 p.

Delgado Velasquez, Y. 2014. Efecto del cadmio en el crecimiento de plántulas de *Lupinus mutabilis* "chocho". Tesis Biol. Universidad Nacional de Trujillo. 39p.

Deng, H; Ye, ZH; Wong, MH. 2004. Acumulación de plomo, zinc, cobre y cadmio por parte de 12 especies de plantas de humedal sedimentadas en sitios contaminados con metal en China. Contaminación Ambiental 132(1):29-40.

Ebbs, S; Kochian, J. 1997. Toxicity of Zin and to *Brassica* species: impliactions for phytoremediation. Journal of environmental quality. 26(3): 790.

Enger, E; Smith, B. 2006. Ciencia Ambiental: un estudio interrelaciones. 10 ed. México: Mc Graw Hill. 536p.

EROSKI CONSUMER, 2015. Propiedades de la piña: origen, variedades. Guía Práctica de Frutas. México. EROSKI. 14p.

FEDECAFE (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia). 1987. El cultivo de la piña, bogota. Produmedios. 225p.

Figueruelo, JE; Marino Dávila, M. 2004. Química física del ambiente y de los procesos medioambientales. Barcelona, España, Reverté, S.A. 606p.

Franco, M; Vasquez, M; Patiño, A; Dendovent, L. 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in central México. Biores. Techn. 101: 3864-3869.

Garcia, D. 2007. Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de *Zea mays* expuestas a la toxicidad por plomo. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Barcelona. 129p.

Garcidueñas, J; 2013. Caracterización morfológica y molecular de piña Ananas comosus (L.) híbrido MD-2 y su establecimiento in vitro. UACH. Departamento de Fitotecnia. Instituto de Horticultura, México.

Gómez, KA; Gómez. A.A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. John Wiley y Sons. New York. 680 p.

Gryglewki, K; Korbut, R; Robak, J; Yswieski, J. 1987. El mecanismo de la acción antitrombótica de flavonoides. Bioquímica Farmacológica 36: 317-322.

Gupta, V; Rastogi, A. 2008. Biosorción de plomo a partir de soluciones acuosas por algas verdes especies de *Spyrogira*: Cinética y estudios de equilibrio. Diario de Materiales Peligrosos 152(1):407-414.

Hellawell, J. 1986. Indicadores biológicos de contaminación de agua dulce y gestión ambiental. 1 ed. Londres, Reino unido, Springer Netherlands. 546p.

Hoyos Cerna, M; Guerrero Padilla, A.2014. Bioaccumulation of lead and cadmium in *Brassica oleracea Subsp. capitata (L.) Metz. And Raphanus sativus L.* Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo Perú. 13p.

Ivanov, V; Strova, B; Seregin, E. 2003. Comprative impacts of heavy on root growth as related to their specificity and selectivity. Russian J. Plant. Physiol 50: 398-406 p.

Jaworski, F. 1987. Ciclismo e impacto del ecosistema del metal en suelos derivados de sedimentos calcáreos contaminados. Ciencia del Ambiente Total 400(1-3):283-289

Kumar, N. 2013. Modelacion matemática del proceso de biosorción de Cr<sup>+6</sup> y Ni<sup>+2</sup>: estudios en serie en columnas de lecho fijo con Bagazo de Caza de Azucar. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas.

Lasat, MM; Pence, NS; Garvin, DF; Stephen, DE; Kochian LV. 2000. Fisiología molecular del transporte de zinc en el hiperacumulador de zinc *Thlaspi caerulescens*. Botánica Experimental 51(342):71-79.

Llamas, A. 2006. Estrés por metales pesados: respuestas fisiológicas inducidas por Cd y Ni en arroz (*Oryza sativa L.*). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. 97p.

Mantilla, C; Pedraza, J; Laverde, D. 2008. Utilizacion de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespativo. DYNA, 75(154),71p.

Maz, A. & Azcue, J., 1993. Metales en sistemas biológicos. 8 ed. España. Promociones y publicaciones universitarias S.A. 74p.

Modher, H; Salleh, A; Millow, P. 2009. Caracterización de la adsorción del plomo (II) por la biomasa no viva *Spirogyra neglecta*. Instituto de Ciencias Biológicas 5(2):75-83.

Molina Montoya, N; Aguilar Casas, P; Cordovez Wandurraga, C. 2010. Plomo, cromo III y cromo IV y sus efectos sobre la salud. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* 8(1):77-88.

Moreno, G; Mónica, S; (2015). Estudio de la bioadsorción de cadmio y plomo con biomasa de *serratia marcescens m8a-2t*, a nivel de laboratorio. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* (15): 473-497.

Naciones Unidas. 2005. Sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA). 1 ed. Nueva York, EE. UU, Naciones Unidas. 578p.

Nava, C y Méndez, A. 2011. "Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio)". *Rev. Arch Neurocién. Mexico*.16 (3):140-147

Navarro, A; Aguilar, A; Lopez, J. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 16:10-25.

Niu, GY; Yang, ZL; Dickinson, RE; Gulden, LE; Su, H. 2007. Desarrollo de un modelo simple de agua subterránea para uso en modelos climáticos y evaluación con datos de recuperación por gravedad y experimentos climáticos. *Revista de investigación geofísica: Atmósferas* 112(7):43.

OCDE, 1998. Sistema armonizado de clasificación integral de peligros para la salud humana y los efectos ambientales de sustancias químicas. Paris, Francia, IOMC. 247p.

Ogundele, L.T., Owoade, O.K., Hopke, P.K. & Olise, F.S. 2017. Heavy metals in industrially emitted particulate matter in Ile-Ife, Nigeria. *Environmental Research*, 156: 320–325.

Olivares, E; Peña, E. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius*, creciendo en cultivos del Estado Miranda, y utilizado en alimentación. Caracas, Venezuela, *INCI* 34(9):11.

Ospina Álvarez, N; Peña, EJ; Benitez, R. 2006. Efecto de la salinidad en la capacidad de bioacumulación de plomo en el alga verde *Rhizoclonium riparium*. *Actualidades Biológicas* 28(84):17-25.

Padilla, L. 2005. Eficiencia de remoción de *Eichhornia crassipes*, *Scirpus californicus* y *Cyperus corymbosus*, en la acumulación de cobre, Zinc, plomo y hierro. Tesis de posgrado. Universidad de Trujillo

Paiva Prado, GM. 2012. Fito remediación de suelos contaminados con plomo utilizando *Amaranthus spinosus* – *Amaranthaceae*. Tesis Doc. Cusco, Perú. Universidad Católica de Santa María. 163p.

Palencia Mendoza, Y. 2010. Sustancias Bioactivas en los alimentos. 9p.

Panich, T. 2005. Phytoextraction and accumulation of lead from contaminated soils by *typha angustifolia*. Tesis para optar el grado de doctor. Phylosophy (Biology) Mahidol university.

Poma, PA. 2008. Intoxicación por plomo en humanos. Anales de la Facultad de Medicina 69(2):25-53.

Ramirez, S.; Porta, A.; Caffini, N. 1999. Fitoquelatinas y peptidos relacionados: Estructura, rol metabólico y aplicaciones ambientales, EE.UU, D Bartholomew. 18(01): 53-63.

Raskin, I.; P.B.A.N. Kumar; S. Dushenkov & D. Salt. (1994) "Bioconcentration of heavy metals by plants".

Rodríguez Galindo, E. 2016. Riesgo de acumulación de metales pesados por *Prosopis laevigata*, especie forrajera. Tesis Quim. Toluca, México, Universidad Autónoma del Estado de México. 56p.

Rohrbach, K; Leal, F; Coppens D`Eeckenbrugge, G. 2003. La piña: botánica, producción y usos. Universidad de Hawai en Manoa, EE.UU, D Bartholomew. 320p.

Sanchez, W; Hoyos, D; Aguinaga, V; Valdivia, F; Ramirez, D; Abanto, C. Anuario Minero 2018, Ministerio de Energía y Minas. 2018. Oficina de imagen Institucional y Comunicaciones. Ministerio de energía y minas. Lima – Perú. 138 p.

Siccha Macassi, AL. 2012. Eficacia de la biosorción de plomo mediante cochayuyo pre tratado (*Chondracanthus chamissoi*). Tesis Ing. Callao, Perú, Universidad Nacional del Callao. 47p.

Sripaoraya, S; Marchant, R; Power, JB; Davey, MR. 2003. Planta. *In Vitro*

Cellular y Biología del desarrollo, 39(5), pp. 450-454.

Tamay Crespo, AP; 2019. Determinación de la capacidad de biosorción y desorción de la corona de piña (*Ananas comosus*) para la remoción de metales pesados. Universidad Politécnica Salesiana. Biotecnología de los recursos naturales. Cuenca. Ecuador. 82 p.

Tello, L; Jave, J; Guerrero, J. 2018. Análisis de cuantificación de plomo en suelos de parques recreacionales de la ciudad de Lima – Perú. Ecología aplicada. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima – Perú. 12p.

UNIPLOM, 2004. El Plomo hechos y realidades: Fuentes, niveles y desplazamientos del plomo en el medio ambiente, España. UNIPLOM. 2p

Vazquez, MD; Poschenrieder, CH; Barcelo, J 1989. Pulvinus structure and leaf abscission in cadmium-treated vean plants (*Phaseolus vulgaris*). Can. J. bot. 67: 2756-2764p.

Volke Sepúlveda, T; Velasco Trejo, J; De la rosa Pérez, D. 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. 1 ed. México D.F, INE-SEMARNAT. 144p.

Wallnofer, PR; Engelhardt, G. 1988. Schadstoffe die aus dem Bodem aufgenommen werden, In: Schadwirkungen auf pflanzen, B. Hock, E, F. Elstner. Wissenschaftsverlag, Mannheim. 95-177p.

Wuderlich Contreras, MR. 2005. Análisis de la Contaminación Atmosférica Provocada por Buques en base a las Exigencias del Anexo VI del MARPOL 73/78. Tesis Lic. Universidad Austral de Chile. 109p.

Zarazua, J; Perez. G; Tejeda, P; Arrientos, L; Gomez, B; Miranda, C. 2013. Evaluación de los factores de bioacumulación (FBA) de los metales Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb en las partes aéreas y sumergidas del sombrerillo de agua del curso alto del río Lerma. Tesis de posgrado. Universidad Autónoma Metropolitana.

Zhao, FJ; Hamon, RE; Lombi, E; McLaughlin, MJ; McGrath, SP. 2002. Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi Cerulescens*. Journal of Experimental Botany 53(368):535-543.

## CAPÍTULO VII

### ANEXO Y APÉNDICE

**Anexo 1.** Imagen de plántula de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill. (a). Diseño experimental (b)



**Anexo 2.** Preparación del medio Murashige y Skoog modificado (a). Medio con las concentraciones 0.00, 1.50, 3.00, 4.50 mM. De  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (b).



**Anexo 3.** Reporte de análisis de laboratorio



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL  
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA  
CON REGISTRO N° LE-103

LABORATORIO DE ENSAYO R-LAB S.A.C.



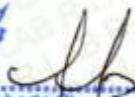
Registro N° LE - 103

## INFORME DE ENSAYO N° 19020300

Cliente	: PEREYRA MONJA JOSUE DAVID
Dirección del cliente	: CAJAMARCA
Usuario	: -
Lugar de Muestreo	: PROYECTO: "ANALISIS DE METAL PESADO EN PLANTAS BIOMASA AEREA Y RADICULAR – CAJAMARCA"
Tipo de Matriz y/o Producto	: BIOMASA AEREA Y RADICULAR
Muestreo Realizado por	: EL CLIENTE
Procedimiento de Muestreo	: -
Referencia al Plan de Muestreo	: -
Número de Muestras	: 08
Fecha de Recepción	: 07-02-2019
Fecha de Inicio y Término de Ensayo:	21 -02-2019 al 21-02-2019

Fecha de emisión: 21-02-2019



  
Ceiso Roberto Churumayo Arellano  
JEFE DE LABORATORIO DE FQ  
CGP - 779

F-IC-01  
Revisión: 04  
Fecha: 24-01-2019



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL  
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA  
CON REGISTRO N° LE-103



LABORATORIO DE ENSAYO R-LAB S.A.C.

Registro N° LE - 103

## INFORME DE ENSAYO N° 19020300

Código de Laboratorio	19020300-01	19020300-02	19020300-03	19020300-04			
Identificación de la Muestra	T1 BIOMASA AEREA	T2 BIOMASA AEREA	T3 BIOMASA AEREA	T4 BIOMASA AEREA			
Descripción del Punto de Muestreo	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca			
Fecha y hora de muestreo	05-02-2019 (15:00)	05-02-2019 (15:10)	05-02-2019 (15:20)	05-02-2019 (15:30)			
Ubicación Geográfica (WGS-84)	N: - E: -	N: - E: -	N: - E: -	N: - E: -			
Tipo de Matriz y/o Producto	BIOMASA AEREA Y RADICULAR						
Tipo de Ensayo	Unidad	L.C.M.	L.D.M	Resultados			
<sup>2</sup> (*) Plomo Total	mg/Kg	5,0	1,2	136,2	4 793	11 519	13 380

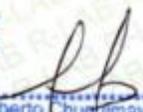
Código de Laboratorio	19020300-05	19020300-06	19020300-07	19020300-08			
Identificación de la Muestra	T1 BIOMASA RADICULAR	T2 BIOMASA RADICULAR	T3 BIOMASA RADICULAR	T4 BIOMASA RADICULAR			
Descripción del Punto de Muestreo	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca	Laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional de Cajamarca			
Fecha y hora de muestreo	05-02-2019 (15:00)	05-02-2019 (15:10)	05-02-2019 (15:20)	05-02-2019 (15:30)			
Ubicación Geográfica (WGS-84)	N: - E: -	N: - E: -	N: - E: -	N: - E: -			
Tipo de Matriz y/o Producto	BIOMASA AEREA Y RADICULAR						
Tipo de Ensayo	Unidad	L.C.M.	L.D.M	Resultados			
<sup>2</sup> (*) Plomo Total	mg/Kg	5,0	1,2	49,9	13 380	23 811	23 926

Notas:

- ✓ Condición y estado de la Muestra (s) Ensayada (s): Las muestras llegaron íntegras al laboratorio.
- ✓ La (s) muestra(s) llegaron en bolsas herméticas.
- ✓ La (s) muestra (s) se mantendrán guardadas en condiciones controladas por un periodo de 10 días calendario luego que haya sido entregado el Informe de Ensayo a excepción de las muestras perecibles.
- ✓ L.C.M: Límite de cuantificación del método; L.D.M: Límite de detección del método.
- ✓ Los resultados están expresados en Masa Seca (MS).
- ✓ El informe de control de calidad será proporcionado a solicitud del cliente.
- ✓ (\*) Método de ensayo no acreditado por el INACAL-DA.
- ✓ <sup>1</sup> Ensayos realizados en la Sede de Ate-Lima ubicada en Calle Berna N° 100, Urb. Los Portales de Javier Prado 1ra Etapa, Ate-Lima.
- ✓ <sup>2</sup> Ensayos realizados en la Sede de Villa el Salvador-Lima Ubicada en Asoc. Cruz de Motupe, Mz. B, Lote 4, Villa el Salvador-Lima.

F-18-02  
Revisión: 05  
Fecha: 24-01-2019



  
 Ceiso Roberto Chuquimayo Arellano  
 JEFE DE LABORATORIO DE FQ  
 CQP - 779



## LABORATORIO DE ENSAYO R-LAB S.A.C.

### INFORME DE ENSAYO N° 19030900

Código de Laboratorio	19030900-01	19030900-02		
Identificación de la Muestra	TOA	TOR		
Descripción del Punto de Muestreo	LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA	LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA		
Fecha y hora de muestreo	07-12-2018 (12:00)	07-12-2018 (12:00)		
Ubicación Geográfica (WGS-84)	N: - E: -	N: - E: -		
Tipo de Matriz y/o Producto	BIOMASA AEREA Y RADICULAR			
Tipo de Ensayo	Unidad	L.C.M.	L.D.M	Resultados
<sup>2</sup> Plomo Total	mg/Kg	0,050	0,013	14,3

**Notas:**

- ✓ Condición y estado de la Muestra (s) Ensayada (s): Las muestras llegaron refrigeradas y preservadas al laboratorio.
- ✓ La (s) muestra(s) llegaron en frasco de polietileno.
- ✓ La (s) muestra (s) se mantendrán guardadas en condiciones controladas por un periodo de 10 días calendarios luego que haya sido entregado el Informe de Ensayo a excepción de las muestras perecibles.
- ✓ Los resultados están expresados en Masa Seca (MS)
- ✓ L.C.M: Limite de cuantificación del método; L.D.M: Limite de detección del método.
- ✓ El informe de control de calidad será proporcionado a solicitud del cliente.
- ✓ (\*) Método de ensayo no acreditado por el INACAL-DA.
- ✓ <sup>1</sup> Ensayos realizados en la Sede de Ate-Lima ubicada en Calle Berna N° 100, Urb. Los Portales de Javier Prado 1ra Etapa, Ate-Lima.
- ✓ <sup>2</sup> Ensayos realizados en la Sede de Villa el Salvador-Lima Ubicada en Asoc. Cruz de Motupe, Mz. B, Lote 4, Villa el Salvador-Lima.

F-IE-02  
Revisión: 05  
Fecha: 24-01-2019

Tipo Ensayo	Norma de Referencia		Año de versión o Edición
	Código	Título	
Plomo Total	METHOD 7000B Revision 2 February// METHOD 3050B Revision 2 December	Flame Atomic Absorption Spectrophotometry// Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils	2007/1996

Fin de documento

  
 Celso Roberto Chuquimayo Arellano  
 Jefe de Laboratorio de FQ  
 CQP-779



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE-103



LABORATORIO DE ENSAYO R-LAB S.A.C.

Registro N° LE -103

## INFORME DE ENSAYO N° 1903091A

Código de Laboratorio	1903091A-01			
Identificación de la Muestra	MIS			
Descripción del Punto de Muestreo	LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA			
Fecha y hora de muestreo	07-12-2018 (13:00)			
Ubicación Geográfica (WGS-84)	N: - E: -			
Tipo de Matriz y/o Producto	AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO			
Tipo de Ensayo	Unidad	L.C.M.	L.D.M	Resultados
<sup>2</sup> Plomo Total	mg/L	0,050	0,013	0,126

Notas:

- ✓ Condición y estado de la Muestra (s) Ensayada (s): Las muestras llegaron refrigeradas y preservadas al laboratorio.
- ✓ La (s) muestra(s) llegaron en frasco de polietileno.
- ✓ La (s) muestra (s) se mantendrán guardadas en condiciones controladas por un periodo de 10 días calendarios luego que haya sido entregado el informe de Ensayo a excepción de las muestras perecibles.
- ✓ L.C.M: Límite de cuantificación del método; L.D.M: Límite de detección del método.
- ✓ El informe de control de calidad será proporcionado a solicitud del cliente.
- ✓ (\*) Método de ensayo no acreditado por el INACAL-DA.
- ✓ <sup>1</sup> Ensayos realizados en la Sede de Ate-Lima ubicada en Calle Berna N° 100, Urb. Los Portales de Javier Prado 1ra Etapa, Ate-Lima.
- ✓ <sup>2</sup> Ensayos realizados en la Sede de Villa el Salvador-Lima Ubicada en Asoc. Cruz de Motupe, Mz. B, Lote 4, Villa el Salvador-Lima.

F-IE-02  
Revisión: 05  
Fecha: 24-01-2019

Tipo Ensayo	Norma de Referencia		Año de versión o Edición
	Código	Título	
Plomo Total	SMEWW – APHA – AWWA – WEF Part. 3030 E, 3030 B y 3111 B. 23rd Ed.	Nitric Acid Digestion/ Filtration for Dissolved and Suspended Metals/ Direct Air – Acetylene Flam Method.	2017

Fin de documento

  
**Celso Roberto Chuquirmayo Arellano**  
 JEFE DE LABORATORIO DE FQ  
 CQP - 779



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL  
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA  
CON REGISTRO N° LE-103

LABORATORIO DE ENSAYO R-LAB S.A.C.

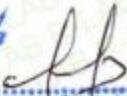


Registro N° LE - 103

## INFORME DE ENSAYO N° 19020300

Tipo Ensayo	Norma de Referencia		Año de versión o Edición
	Código	Título	
Plomo Total	SMEWW – APHA – AWWA – WEF Part. 3030 E, 3030 B y 3111 B. 23rd Ed.	Nitric Acid Digestion/ Filtration for Dissolved and Suspended Metals/ Direct Air – Acetylene Flam Method.	2017

Fin de documento

  
Roberto Chuquimayo Arellano  
JEFE DE LABORATORIO DE FQ  
C

## APÉNDICE

**Apéndice 1.** Tabla de valores de sobrevivencia de plántulas de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill, a los 30 y 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamiento	Concentración de plomo (ppm)	Plantas sembradas	30 días de evaluación			60 días de evaluación		
			S	NS	%	S	NS	%
C <sub>0</sub>	0	16	16	0	100%	16	0	100%
C <sub>1</sub>	310.77	16	16	0	100%	16	0	100%
C <sub>2</sub>	621.54	16	16	0	100%	16	0	100%
C <sub>3</sub>	932.31	16	16	0	100%	16	0	100%
<b>Promedio</b>		16	16	0	100%	16	0	100%
Total		64	64	0	100%	64	0	100%

\*S=sobrevivientes; NS= no sobrevivientes %= porcentaje de sobrevivencia

**Apéndice 2.** Tabla de valores de peso húmedo de la biomasa aérea de plántulas de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
Clave	Concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	0.18	0.20	0.17	0.20	0.20	0.19	0.17	0.16	0.18
C <sub>1</sub>	310.77	0.17	0.17	0.18	0.19	0.18	0.18	0.17	0.17	0.18
C <sub>2</sub>	621.54	0.17	0.16	0.16	0.17	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16
C <sub>3</sub>	932.31	0.12	0.14	0.12	0.14	0.13	0.15	0.14	0.13	0.13

**Apéndice 3.** Tabla de valores de peso seco de la biomasa aérea de plántulas de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	Concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08	0.09
C <sub>1</sub>	310.77	0.06	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.06
C <sub>2</sub>	621.54	0.07	0.07	0.08	0.06	0.07	0.08	0.07	0.06	0.07
C <sub>3</sub>	932.31	0.06	0.07	0.06	0.07	0.06	0.07	0.08	0.06	0.07

**Apéndice 4.** Tabla de valores de peso húmedo de la biomasa radicular de plántulas de piña *Ananas comosus (L.) Merrill*, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	0.05	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05
C <sub>1</sub>	310.77	0.03	0.03	0.03	0.02	0.04	0.07	0.05	0.06	0.04
C <sub>2</sub>	621.54	0.06	0.05	0.04	0.02	0.07	0.06	0.07	0.08	0.06
C <sub>3</sub>	932.31	0.04	0.04	0.05	0.03	0.07	0.04	0.03	0.05	0.04

**Apéndice 5.** Tabla de valores de peso seco de la biomasa radicular de plántulas de piña *Ananas comosus (L.) Merrill*, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	0.13	0.15	0.14	0.12	0.13	0.12	0.12	0.13	0.13
C <sub>1</sub>	310.77	0.09	0.10	0.09	0.08	0.10	0.13	0.12	0.13	0.10
C <sub>2</sub>	621.54	0.13	0.11	0.11	0.08	0.14	0.14	0.14	0.14	0.12
C <sub>3</sub>	932.31	0.10	0.11	0.11	0.10	0.10	0.13	0.11	0.11	0.11

**Apéndice 6.** Tabla de valores de longitud radicular en plántulas de piña *Ananas comosus (L.) Merrill*, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	1.60	5.40	3.30	4.05	2.75	1.20	2.90	2.25	2.93
C <sub>1</sub>	310.77	1.30	2.70	0.80	0.90	1.05	2.35	2.15	1.10	1.54
C <sub>2</sub>	621.54	1.70	1.65	1.50	1.10	1.65	1.95	1.55	0.25	1.42
C <sub>3</sub>	932.31	2.20	1.40	1.20	1.35	1.65	0.30	1.70	0.95	1.34

**Apéndice 7.** Tabla de valores de número de hojas en plántulas de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	61	21	42	23	31	24	15	13	29
C <sub>1</sub>	310.77	29	34	8	10	16	10	9	12	16
C <sub>2</sub>	621.54	13	10	11	8	23	8	8	16	12
C <sub>3</sub>	932.31	8	8	9	13	8	6	11	8	9

**Apéndice 8.** Tabla de valores de número de ramificaciones en plántulas de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill, a los 60 días de ser expuestas a los distintos niveles de plomo.

Tratamientos		Repeticiones								Promedio
clave	concentración de Pb (ppm)	1	2	3	4	5	6	7	8	
C <sub>0</sub>	0	4	1	2	1	10	7	8	8	5
C <sub>1</sub>	310.77	4	5	1	7	5	6	1	2	4
C <sub>2</sub>	621.54	1	3	1	1	4	2	1	2	2
C <sub>3</sub>	932.31	1	1	1	1	1	1	2	1	1