



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS DEL  
CROMO HEXA VALENTE, MEDIANTE BIOENSAYOS EN  
*Zantedeschia aethiopica* Y *Helianthus annuus***

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORES: GUALLI ARAGADVAY CRISTIAN ORLANDO**

**MENA MALDONADO ANDRÉS EDUARDO**

**TUTOR: ING. ANDRES AGUSTÍN BELTRÁN DÁVALOS**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2017**

©2017, Cristian Orlando Gualli Aragadvay y Andrés Eduardo Mena Maldonado

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

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: el trabajo de investigación “EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS DEL CROMO HEXAVALENTE, MEDIANTE BIOENSAYOS EN *Zantedeschia aethiopica* Y *Helianthus annuus*” de responsabilidad de los señores: Cristian Orlando Gualli Aragadvay y Andrés Eduardo Mena Maldonado, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

Ing. Andrés Beltrán ..... 03 de Marzo del 2017

**Director del Trabajo de Titulación**                      **Firma**                      **Fecha**

Msc. Jenner Baquero ..... 03 de Marzo del 2017

**Asesor del Trabajo de Titulación**                      **Firma**                      **Fecha**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Nosotros, Cristian Orlando Gualli Aragadvay y Andrés Eduardo Mena Maldonado, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autores, asumimos la responsabilidad legal y académicas de los contenidos de este trabajo de titulación.

Nosotros, Cristian Orlando Gualli Aragadvay y Andrés Eduardo Mena Maldonado, somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Proyecto de Titulación y el patrimonio intelectual del Proyecto de titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

CRISTIAN ORLANDO GUALLI ARAGADVAY

ANDRÉS EDUARDO MENA MALDONADO

## DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a Dios y Nuestra Señora del Perpetuo Socorro que ha puesto en mi la sabiduría y fortaleza para continuar en esta etapa de la vida y me han demostrado que jamás me han abandonado por que su amor es infinito.

A mi padre Juan y mi madre Rosa (+) que desde el cielo siempre ha guiado mi camino, a Geovanny, Fabiola y Vanessa que compartimos alegrías, problemas y tristezas pero siempre contaré con ellos porque son los mejores hermanos.

Para mis amigos Fernando, Joel, Elva, Rocio, Patricia Colcha y Elsita que siempre me han dado fuerza y ánimo.

Cristian

El presente trabajo esta dedicado a Dios por guiarme en esta etapa de preparación y formación personal, gracias Padre por brindarme la capacidad y las bendiciones necesarias para culminar el presente trabajo.

A mi familia por su apoyo incondicional, a mis hermanitas Lis y Samy, a mi Padre Hugo y en especial a mi madre Dinora quien ha hecho hasta lo imposible por ver culminado este trabajo, gracias Mami por darme la vida y seguir creyendo en mi, cada logro alcanzado es y será en tu nombre, te amo.

A mi abuelita Maruja Castillo, gracias Mamita por quererme y animarme a continuar día a día.

Para mi amigo Jaime por bendecirme y brindarme una nueva oportunidad de vivir, a ti va dedicado todo mi esfuerzo. A todos los amigos, compañeros y profesores que hicieron posible la realización de nuestro trabajo de titulación.

Andrés

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Facultad de Ciencias por convertirse en nuestro segundo hogar y ser la institución formadora de conocimientos y valores.

A nuestro director de tesis el Ingeniero Andrés Beltran y nuestro asesor el Ingeniero Jenner Baquero por brindarnos su tiempo, por los valiosos y oportunos conocimientos y la confianza depositada durante la realización del presente trabajo de titulación.

Al Ingeniero Juan Carlos Lara técnico del laboratorio de Servicios Ambientales de la UNACH, por facilitarnos las instalaciones para la realización del correspondiente desarrollo experimental.

A nuestros amigos quienes de una u otra manera nos han ayudado y apoyado en la culminación del trabajo de tesis.

Cristian y Andrés

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	xxiii
<b>SUMMARY</b> .....	xxiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	3
<b>OBJETIVOS</b> .....	3
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL</b> .....	5
1.1. Antecedentes de la investigación. ....	5
1.2. El cromo.....	6
1.2.1. <i>Usos del Cromo VI</i> .....	7
1.2.2. <i>Contaminación por cromo VI en suelos.</i> .....	7
1.2.3. <i>Cromo VI como Tóxico Ambiental</i> .....	8
1.2.4. <i>Estudios Toxicológicos con Cromo VI</i> .....	9
1.3. <b>Helianthus annuus (Girasol)</b> .....	10
1.3.1. <i>Características de la especie Helianthus annuus</i> .....	10
1.3.2. <i>Uso en Bioensayos de la especie Helianthus annuus</i> .....	11
1.4. <b>Zantedeschia aethiopica (Cartucho)</b> .....	11
1.4.1. <i>Características de la especie Zantedeschia aethiopica</i> .....	12
1.4.2. <i>Uso en Bioensayos de la especie Zantedeschia aethiopica</i> .....	12

<b>1.5.</b>	<b>Efectos y peligros del cromo en las plantas .....</b>	<b>13</b>
<b>1.5.1.</b>	<b><i>Afectaciones al crecimiento por Cromo VI.....</i></b>	<b>13</b>
<b>1.5.2.</b>	<b><i>Cromo VI y procesos enzimáticos en plantas .....</i></b>	<b>13</b>
<b>1.5.3.</b>	<b><i>Mecanismos de transporte del cromo VI en plantas.....</i></b>	<b>14</b>
<b>1.5.4.</b>	<b><i>Necrosis por Cromo VI .....</i></b>	<b>15</b>
<b>1.5.5.</b>	<b><i>Bioacumulación de Cromo VI.....</i></b>	<b>16</b>

## **CAPÍTULO II**

<b>2.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.</b>	<b>Metodología de la investigación.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2.</b>	<b>Ubicación de la investigación.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.1.</b>	<b><i>Lugar .....</i></b>	<b>18</b>
<b>2.3.</b>	<b>Lógica de la Investigación .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1.</b>	<b><i>Etapa I: Germinación .....</i></b>	<b>19</b>
<b>2.3.1.1.</b>	<b><i>Preparación de la solución de dicromato de potasio para el riego .....</i></b>	<b>19</b>
<b>2.3.1.2.</b>	<b><i>Siembra en cajas Petri.....</i></b>	<b>21</b>
<b>2.3.2.</b>	<b><i>Etapa II: Crecimiento.....</i></b>	<b>24</b>
<b>2.3.2.1.</b>	<b><i>Protocolo de bioensayo para germinación.....</i></b>	<b>24</b>
<b>2.3.2.2.</b>	<b><i>Armado del diseño en macetas.....</i></b>	<b>25</b>
<b>2.3.2.3.</b>	<b><i>Siembra de las semillas en las macetas.....</i></b>	<b>26</b>
<b>2.3.2.4.</b>	<b><i>Riego con concentraciones de Dicromato de Potasio.....</i></b>	<b>27</b>
<b>2.3.3.</b>	<b><i>Etapa 3: Análisis e interpretación de la información.....</i></b>	<b>28</b>

2.3.3.1.	<i>Porcentaje de germinación relativa (%GR)</i> .....	28
2.3.3.2.	<i>Porcentaje de elongación radicular (%ER)</i> .....	28
2.3.3.3.	<i>Índice de germinación (IG)</i> .....	28
2.3.3.4.	<i>Indicadores de toxicidad</i> .....	29
2.3.3.5.	<i>Estimación Dosis Letal</i> .....	29
2.3.3.6.	<i>Bioacumulación de Cr (VI)</i> .....	30

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	32
3.1.	<b>Etapas I Germinación: Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i></b> .....	32
3.1.1.	<i>Porcentaje de Germinación Relativo (%GR)</i> .....	32
3.1.2.	<i>Elongación Radicular: <i>Zantedeschia aethiopica</i></i> .....	35
3.1.3.	<i>Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%): <i>Zantedeschia aethiopica</i></i> .....	40
3.1.4.	<i>Dosis Letal: <i>Zantedeschia aethiopica</i></i> .....	41
3.1.4.1.	<i>Método gráfico de Litchfield – Wilcoxon</i> .....	41
3.1.4.2.	<i>Método Probit</i> .....	43
3.2.	<b>Etapas I Germinación: Especie <i>Helianthus annuus</i></b> .....	46
3.2.1.	<i>Porcentaje de Germinación Relativo (%GR)</i> .....	46
3.2.2.	<i>Elongación Relativa de la Radícula (ER%)</i> .....	49
3.2.3.	<i>Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%)</i> .....	55
3.2.4.	<i>Dosis Letal: <i>Helianthus annuus</i></i> .....	56
3.2.4.1.	<i>Método gráfico de Litchfield – Wilcoxon</i> .....	56

3.2.4.2.	<i>Método Probit</i> .....	57
3.3.	<b>Fiabilidad de datos Etapa I</b> .....	60
3.4.	<b>Etapa II Crecimiento: Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i></b> .....	61
3.4.1.	<i>Ancho Foliar</i> .....	61
3.4.2.	<i>Altura de la planta</i> .....	65
3.4.3.	<i>Necrosis y anomalías. Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i></i> .....	68
3.5.	<b>Etapa II Crecimiento: Especie <i>Helianthus annuus</i></b> .....	71
3.5.1.	<i>Ancho Foliar</i> .....	71
3.5.2.	<i>Altura de la planta</i> .....	74
3.5.3.	<i>Necrosis y anomalías especie <i>Helianthus annuus</i></i> .....	78
3.6.	<b>Fiabilidad de datos Etapa II</b> .....	81
3.7.	<b>Etapa III Análisis de la Información: Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i></b> .....	81
3.7.1.	<i>Bioacumulación por Órganos</i> .....	81
3.7.1.1.	<i>Bioacumulación en la Radícula</i> .....	83
3.7.1.2.	<i>Bioacumulación en el tallo</i> .....	87
3.7.1.3.	<i>Bioacumulación en el hojas</i> .....	90
3.7.1.4.	<i>Bioacumulación en la flor</i> .....	93
3.7.1.5.	<i>Acumulación en el suelo</i> .....	96
3.7.1.6.	<i>Factor de Bioconcentración (FB)</i> .....	99
3.7.1.7.	<i>Factor de Traslocación.(FT)</i> .....	100
3.8.	<b>Etapa III Análisis de la Información: Especie <i>Helianthus annuus</i></b> .....	101
3.8.1.	<i>Bioacumulación por Órganos</i> .....	101

3.8.1.1.	<i>Bioacumulación en la radícula.....</i>	104
3.8.1.2.	<i>Bioacumulación en tallos. ....</i>	107
3.8.1.3.	<i>Bioacumulación en las hojas.....</i>	109
3.8.1.4.	<i>Bioacumulación en flores.....</i>	112
3.8.1.5.	<i>Concentración en el suelo. ....</i>	115
3.8.1.6.	<i>Factor de bioconcentración (FB).....</i>	118
3.8.1.7.	<i>Factor de traslocación.....</i>	119
3.9.	<b>Análisis de Componentes Principales.....</b>	119
3.9.1.	<i>ACP especie: Helianthus annus.....</i>	120
3.9.2.	<i>ACP especie Zantedeschia aethiopica.....</i>	123
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	129
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	131
	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2.</b> Diseño Experimental utilizado en la investigación .....	17
<b>Tabla 2-2.</b> Concentraciones de cromo VI utilizadas en la investigación. ....	20
<b>Tabla 3-2.</b> Criterios del Índice de Germinación.....	29
<b>Tabla 1-3.</b> Número de semillas germinadas. Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i> . ....	32
<b>Tabla 2-3.</b> Resultado ANOVA especie <i>Z. aethiopica</i> : número de semillas germinadas. ....	33
<b>Tabla 3-3.</b> Análisis de Tukey especie <i>Z. aethiopica</i> : Número de semillas germinadas.....	33
<b>Tabla 4-3.</b> Medidas de la Elongación radicular a los 8 días. Especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	35
<b>Tabla 5-3.</b> Resultados de la prueba ANOVA para el tamaño de raíz. Especie <i>Z. aethiopica</i> .....	36
<b>Tabla 6-3.</b> Prueba Tukey del número de semillas germinadas especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	36
<b>Tabla 7-3.</b> Subconjuntos Homogéneos, especie: <i>Zantedeschia aethiopica</i> . ....	37
<b>Tabla 8-3.</b> Resultados etapa de Germinación en la especie <i>Z. aethiopica</i> . ....	40
<b>Tabla 9-3.</b> Datos de Dosis-Respuesta por el Método gráfico Litchfield – Wilcoxon.....	42
<b>Tabla 10-3.</b> Transformación escala Probit: Cálculo de DL <sub>50</sub> especie <i>Z. aethiopica</i> . ....	43
<b>Tabla 11-3.</b> Parámetros de la Curva Dosis-Respuesta. Especie <i>Z. aethiopica</i> .....	44
<b>Tabla 12-3.</b> Parámetros de la Curva Linearizada de Dosis-Respuesta .....	45
<b>Tabla 13-3.</b> Semillas germinadas. Especie <i>Helianthus annuus</i> . ....	46
<b>Tabla 14-3.</b> Resultado prueba ANOVA número de semillas germinadas especie <i>H. annuus</i> . ....	46
<b>Tabla 15-3.</b> Resultado prueba Tukey número de semillas germinadas especie: <i>H. annuus</i> . ....	47
<b>Tabla 16-3.</b> Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.....	48
<b>Tabla 17-3.</b> Medidas de la Elongación radicular a los 7 días. Especie: <i>H. annuus</i> . ....	49

<b>Tabla 18-3.</b> Resultados de la prueba ANOVA para el tamaño de raíz. Especie <i>H. annuus</i> .....	50
<b>Tabla 19-3.</b> Resultado prueba Tukey del número de semillas germinadas especie: <i>H.annuus</i> . ...	51
<b>Tabla 20-3.</b> Subconjuntos Homogéneos, especie: <i>Helianthus annuus</i> .....	52
<b>Tabla 21-3.</b> Resultados etapa de Germinación de la especie <i>H. annuus</i> .....	55
<b>Tabla 22-3.</b> Datos Dosis-Respuesta por el Método gráfico Litchfield – Wilcoxon.....	57
<b>Tabla 23-3.</b> Transformación a escala Probit: Cálculo de DL <sub>50</sub> especie <i>Helianthus annuus</i> .....	57
<b>Tabla 24-3.</b> Parámetros de la Curva Sigmoidea Dosis-Respuesta. Especie <i>H. annuus</i> .....	58
<b>Tabla 25-3.</b> Parámetros de la Curva Linearizada de Dosis-Respuesta .....	59
<b>Tabla 26-3.</b> Prueba de fiabilidad mediante Alfa de Cronbach.....	60
<b>Tabla 27-3.</b> Prueba de fiabilidad supresión de variable .....	60
<b>Tabla 28-3.</b> Valores del ancho de hoja. Especie <i>Z. aethiopica</i> . .....	61
<b>Tabla 29-3.</b> Resultados prueba ANOVA del ancho de hojas. Especie <i>Z. aethiopica</i> .....	62
<b>Tabla 30-3.</b> Resultado prueba Tukey del ancho de hoja especie: <i>Z. aethiopica</i> . .....	63
<b>Tabla 31-3.</b> Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.....	64
<b>Tabla 32-3.</b> Medidas de la altura en plantas. Especie <i>Z. aethiopica</i> . .....	65
<b>Tabla 33-3.</b> Resultados de la prueba ANOVA de la altura especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	66
<b>Tabla 34-3.</b> Resultado prueba Tukey de la Altura especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	66
<b>Tabla 35-3.</b> Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.....	67
<b>Tabla 36-3.</b> Valores del ancho de hoja. Especie <i>H. annuus</i> .....	71
<b>Tabla 37-3.</b> Resultados de la prueba ANOVA para el ancho de hojas. Especie <i>H. annuus</i> . .....	72
<b>Tabla 38-3.</b> Resultado prueba Tukeydel Ancho de hoja especie: <i>H. annuus</i> .....	73
<b>Tabla 39-3.</b> Medidas de la altura en plantas. Especie <i>H. annuus</i> .....	74

<b>Tabla 40-3.</b> Resultados de la prueba ANOVA para la altura de las plantas especie <i>H. annuus.</i> ...	75
<b>Tabla 41-3.</b> Resultado prueba Tukey para la Altura de las plantas especie: <i>H. annuus.</i> .....	76
<b>Tabla 42-3.</b> Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.....	77
<b>Tabla 43-3.</b> Prueba de fiabilidad mediante Alfa de Cronbach.....	81
<b>Tabla 44-3.</b> Niveles de cromo VI presentes en la especie <i>Z. aethiopica</i> .....	82
<b>Tabla 45-3.</b> Valores de bioacumulación especie: <i>Zantendeschia aethiopica.</i> .....	82
<b>Tabla 46-3.</b> Niveles de Cromo VI en la raíz especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	84
<b>Tabla 47-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la raíz especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	85
<b>Tabla 48-3.</b> Análisis Tukey Bioacumulación en la raíz especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	85
<b>Tabla 49-3.</b> Subconjuntos homogéneos Bioacumulación raíz especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	86
<b>Tabla 50-3.</b> Niveles de cromo VI en el tallo especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	87
<b>Tabla 51-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el tallo especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	88
<b>Tabla 52-3.</b> Análisis de Tukey de la Bioacumulación en el tallo especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	89
<b>Tabla 53-3.</b> Niveles de Cromo VI en las hojas de la especie <i>Z. aethiopica</i> .....	90
<b>Tabla 54-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la raíz especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	91
<b>Tabla 55-3.</b> Comparaciones múltiples Tukey Bioacumulación-Hojas especie: <i>Z.aethiopica.</i> .....	91
<b>Tabla 56-3.</b> Niveles de cromo VI en la flor de la especie <i>Z. aethiopica</i> .....	93
<b>Tabla 57-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la flor especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	94
<b>Tabla 58-3.</b> Comparaciones múltiples Tukey Bioacumulación-Hojas especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	95
<b>Tabla 59-3.</b> Niveles de Cromo VI en el suelo especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	96
<b>Tabla 60-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el suelo especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	97
<b>Tabla 61-3.</b> Comparaciones múltiples Acumulación-Suelo especie: <i>Z. aethiopica.</i> .....	97

<b>Tabla 62-3.</b> Subconjuntos homogéneos acumulación del suelo especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	98
<b>Tabla 63-3.</b> Factor de bioconcentración especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	100
<b>Tabla 64-3.</b> Factores de traslocación (FT) especie de <i>Z. aethiopica</i> .....	100
<b>Tabla 65-3.</b> Niveles de cromo VI en los órganos de la especie <i>H. annuus</i> .....	101
<b>Tabla 66-3.</b> Valores de bioacumulación en la especie <i>H. annuus</i> .....	102
<b>Tabla 67-3.</b> Análisis ANOVA Bioacumulación en la radícula especie: <i>H. annuus</i> .....	104
<b>Tabla 68-3.</b> Análisis de Tukey de la Bioacumulación en la radícula especie: <i>H. annuus</i> .....	105
<b>Tabla 69-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el tallo especie: <i>H. annuus</i> .....	107
<b>Tabla 70-3.</b> Análisis de Tukey de la Bioacumulación en el tallo especie: <i>H. annuus</i> .....	107
<b>Tabla 71-3.</b> Análisis ANOVA Bioacumulación en las hojas especie: <i>H. annuus</i> .....	109
<b>Tabla 72-3.</b> Análisis de Tukey de la Bioacumulación en hojas especie: <i>H. annuus</i> .....	110
<b>Tabla 73-3.</b> Subconjuntos homogéneos de la Bioacumulación en hojas especie: <i>H. annuus</i> .....	111
<b>Tabla 74-3.</b> Análisis ANOVA de la Bioacumulación en flores especie: <i>H. annuus</i> .....	112
<b>Tabla 75-3.</b> Análisis de Tukey de la Bioacumulación en hojas especie: <i>H. annuus</i> .....	113
<b>Tabla 76-3.</b> Subconjuntos homogéneos de Bioacumulación en flores especie: <i>H. annuus</i> .....	114
<b>Tabla 77-3.</b> Análisis ANOVA acumulación de cromo VI en el suelo especie: <i>H. annuus</i> .....	115
<b>Tabla 78-3.</b> Análisis de Tukey de la concentración en el suelo especie <i>H. annuus</i> .....	116
<b>Tabla 79-3.</b> Subconjuntos homogéneos Bioacumulación en flores especie: <i>H. annuus</i> .....	117
<b>Tabla 80-3.</b> Factores de bioconcentración (FB) de la especie <i>H. annuus</i> .....	118
<b>Tabla 81-3.</b> Factores de traslocación (FT) especie <i>H. annuus</i> .....	119
<b>Tabla 82-3.</b> Resumen de los valores de bioacumulación en la especie <i>H. annuus</i> .....	120
<b>Tabla 83-3.</b> Comunalidades para cada una de las variables de la especie <i>H. annuus</i> .....	120

<b>Tabla 84-3.</b> Varianza total en la extracción de componentes principales. Especie <i>H. annuus</i> ..	121
<b>Tabla 85-3.</b> Matriz de componente rotado mediante normalización Varimax. ....	122
<b>Tabla 86-3.</b> Matriz de coeficiente de puntuación de componente principal. ....	122
<b>Tabla 87-3.</b> Resumen de valores de bioacumulación en la especie <i>Z. aethiopica</i> .....	123
<b>Tabla 88-3.</b> Comunalidades de las variables de la especie <i>Z. aethiopica</i> . ....	124
<b>Tabla 89-3.</b> Varianza total de la extracción de ACP especie <i>Z. aethiopica</i> .....	125
<b>Tabla 90-3.</b> Matriz de componente rotado mediante normalización Varimax. ....	125
<b>Tabla 91-3.</b> Matriz de coeficiente de puntuación de componente principal. ....	126

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Industria de la curtiembre.....	7
<b>Figura 2-1.</b> Descargas de cromo VI en la zona industrial.....	8
<b>Figura 3-1.</b> Especie <i>Helianthus annuus</i> .....	10
<b>Figura 4-1.</b> Especie <i>Zantedeschia atehiopica</i> .....	12
<b>Figura 5-1.</b> Estructuras electrónicas de las ROS (Reactive Oxygen Species). .....	14
<b>Figura 6-1.</b> Necrosis en hojas de la especie <i>Helianthus annuus</i> . .....	15
<b>Figura 1-2.</b> Lógica de la Investigación.....	19
<b>Figura 2-2.</b> Preparación de solución madre.....	20
<b>Figura 3-2.</b> Diferentes concentraciones de cromo VI. ....	21
<b>Figura 4-2.</b> Diferentes concentraciones de cromo VI. ....	21
<b>Figura 5-2.</b> Semillas certificadas de <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	22
<b>Figura 6-2.</b> Semillas certificadas de <i>Helianthus annuus</i> . ....	22
<b>Figura 7-2.</b> Etiquetado y preparación de cajas Petri. ....	23
<b>Figura 8-2.</b> Ubicación de semillas en las cajas Petri. ....	23
<b>Figura 9-2.</b> Riego de las cajas con Dicromato de Potasio.....	23
<b>Figura 10-2.</b> Cajas Petri ubicadas en la incubadora a 25 °C .....	24
<b>Figura 11-2.</b> Diseño de macetas en la Etapa II.....	24
<b>Figura 12-2.</b> Etapa II: Crecimiento .....	25
<b>Figura 13-2.</b> Construcción de un Invernadero.....	25
<b>Figura 14-2.</b> Pesaje de tierra fértil.....	26
<b>Figura 15-2.</b> Invernadero usado en la investigación. ....	26
<b>Figura 16-2.</b> Distribución de macetas en el invernadero.....	27

<b>Figura 17-2.</b> Siembra de semillas en macetas. ....	27
<b>Figura 18-2.</b> Planta separada en órganos para su análisis. ....	30
<b>Figura 1-3.</b> <i>Zantedeschia aethiopica</i> : Semillas en concentración 0 ppm.....	38
<b>Figura 2-3.</b> <i>Zantedeschia aethiopica</i> : Semillas en concentración 50 ppm.....	39
<b>Figura 3-3.</b> <i>Z. aethiopica</i> : Semillas en concentración 100 ppm.....	39
<b>Figura 4-3.</b> <i>Zantedeschia aethiopica</i> : Semillas en concentración 200 ppm.....	39
<b>Figura 5-3.</b> <i>Zantedeschia aethiopica</i> : Semillas en concentración 300 ppm.....	40
<b>Figura 6-3.</b> <i>Helianthus annuus</i> : Semillas en concentración 0 ppm.....	53
<b>Figura 7-3.</b> <i>Helianthus annuus</i> : Semillas en concentración 50 ppm.....	53
<b>Figura 8-3.</b> <i>Helianthus annuus</i> : Semillas en concentración 100 ppm.....	54
<b>Figura 9-3.</b> <i>Helianthus annuus</i> : Semillas en concentración 200 ppm.....	54
<b>Figura 10-3.</b> <i>Helianthus annuus</i> : Semillas en concentración 300 ppm.....	54
<b>Figura 11-3.</b> Necrosis en <i>Zantedeschia aethiopica</i> : concentración 0 ppm .....	68
<b>Figura 12-3.</b> Necrosis en <i>Zantedeschia aethiopica</i> : concentración 50 ppm .....	69
<b>Figura 13-3.</b> Necrosis en <i>Z. aethiopica</i> : concentración 100 ppm.....	69
<b>Figura 14-3.</b> Necrosis en <i>Zantedeschia aethiopica</i> : concentración 100 ppm .....	70
<b>Figura 15-3.</b> Necrosis en <i>Zantedeschia aethiopica</i> : concentración 200 ppm .....	70
<b>Figura 16-3.</b> Necrosis en <i>Zantedeschia aethiopica</i> : concentración 300 ppm .....	71
<b>Figura 17-3.</b> Necrosis especie <i>H. annuus</i> : concentración 0 ppm .....	78
<b>Figura 18-3.</b> Necrosis especie <i>H. annuus</i> : concentración 50 ppm .....	79
<b>Figura 19-3.</b> Necrosis especie <i>H. annuus</i> : concentración 100 ppm .....	79
<b>Figura 20-3.</b> Necrosis especie <i>Helianthus annuus</i> : concentración 200 ppm.....	80
<b>Figura 21-3.</b> Necrosis especie <i>H. annuus</i> : concentración 300 ppm .....	80

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3.</b> Porcentaje semillas germinadas <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	34
<b>Gráfico 2-3.</b> Longitud Radicular especie <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	38
<b>Gráfico 3-3.</b> Índice de Germinación especie: <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	41
<b>Gráfico 4-3.</b> Método Litchfield – Wilcoxon, Dosis-Respuesta especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	42
<b>Gráfico 5-3.</b> Dosis-Letal: Curva Sigmoidea especie: <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	44
<b>Gráfico 6-3.</b> Dosis-Letal: Probit (Linearizada) especie <i>Zantedeschia aethiopica</i> .....	45
<b>Gráfico 7-3.</b> Porcentaje semillas germinadas <i>Helianthus annuus</i> .....	49
<b>Gráfico 8-3.</b> Longitud Radicular especie <i>Helianthus annuus</i> . .....	52
<b>Gráfico 9-3.</b> Índice de Germinación especie: <i>Helianthus annuus</i> . .....	55
<b>Gráfico 10-3.</b> Método Litchfield – Wilcoxon, Dosis-Respuesta especie: <i>Helianthus annuus</i> . ..	56
<b>Gráfico 11-3.</b> Dosis-Letal: Curva Sigmoidea especie: <i>Helianthus annuus</i> .....	58
<b>Gráfico 12-3.</b> Dosis-Letal: Probit (Linearizada) especie <i>Helianthus annuus</i> .....	59
<b>Gráfico 13-3.</b> Relación entre los tratamientos y el ancho foliar de <i>Z. aethiopica</i> .....	64
<b>Gráfico 14-3.</b> Relación Tratamientos-Altura de la planta en la especie <i>Z. aethiopica</i> .....	68
<b>Gráfico 15-3.</b> Relación entre tratamientos y el ancho foliar de <i>Helianthus annuus</i> .....	74
<b>Gráfico 16-3.</b> Relación entre los tratamientos y el ancho foliar de <i>H. annuus</i> .....	78
<b>Gráfico 17-3.</b> Relación Concentración vs Bioacumulación especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	83
<b>Gráfico 18-3.</b> Relación tratamiento y bioacumulación de la radícula, <i>Z. aethiopica</i> . .....	86
<b>Gráfico 19-3.</b> Relación Tratamientos-Bioacumulación en el tallo especie: <i>Z. aethiopica</i> . .....	89
<b>Gráfico 20-3.</b> Relación Tratamientos-Bioacumulación en hojas especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	92
<b>Gráfico 21-3.</b> Relación Tratamientos-Bioacumulación en flores especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	95
<b>Gráfico 22-3.</b> Relación Tratamientos-Acumulación en el suelo especie: <i>Z. aethiopica</i> .....	99

<b>Gráfico 23-3.</b> Relación Concentración-Bioacumulación de cromo VI especie <i>H. annuus</i> . ....	102
<b>Gráfico 24-3.</b> Relación tratamientos-bioacumulación en la raíz especie <i>H. annuus</i> . .....	106
<b>Gráfico 25-3.</b> Relación Concentración-Bioacumulación en el tallo: especie <i>H. annuus</i> . .....	108
<b>Gráfico 26-3.</b> Relación Concentración-Bioacumulación en las hojas: especie <i>H. annuus</i> . .....	111
<b>Gráfico 27-3.</b> Relación Tratamientos-Bioacumulación en flores especie: <i>H. annuus</i> . .....	114
<b>Gráfico 28-3.</b> Relación Concentración-Acumulación en el suelo especie <i>H. annuus</i> . .....	117

## ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO A.** Ubicación del invernadero de la investigación

**ANEXO B.** Condiciones recomendadas para ensayos de Toxicidad aguda para la especie  
*Zantedeschia aethiopica*

**ANEXO C.** Condiciones recomendadas para ensayos de Toxicidad aguda para la especie  
*Helianthus annuus*

**ANEXO D.** Semillas de la especie: *Zantedeschia aethiopica* a los 16 días de su germinación

**ANEXO E.** Semillas de la especie: *Helianthus annuus* a los 16 días de su germinación

**ANEXO F.** Registro de la altura especie *Zantedeschia aethiopica*

**ANEXO G.** Registro de la altura planta *Helianthus annuus*

**ANEXO H.** Registro del ancho foliar de la especie *Zantedeschia aethiopica*

**ANEXO I.** Registro del ancho foliar de la especie *Helianthus annuus*

## RESUMEN

El propósito de esta investigación fue evaluar los efectos ecotoxicológicos del cromo VI mediante bioensayos en las especies vegetales *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus* debido a la problemática ambiental producida por industrias que en sus residuos finales incluyen sustancias con cromo VI; en el presente estudio se cuantificó y cualificó los efectos sobre la germinación y el crecimiento en concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 300 ppm de cromo VI en soluciones de Dicromato de potasio; el tamaño de la muestra en la etapa de germinación fue de 30 unidades experimentales por especie y en la etapa de crecimiento de 15 unidades; se realizaron bioensayos de toxicidad aguda en semillas durante 168 horas; se usó un diseño completamente aleatorizado (DCA) sobre la elongación relativa de la radícula (ER%), el porcentaje de germinación relativo (GR%) y el índice de germinación (IG%); en el crecimiento se evaluó: el ancho foliar, altura de las plantas y bioacumulación en los órganos complementados con un Análisis de Componentes Principales (ACP). Se calculó la dosis letal (DL) que fue de 132 ppm para *Zantedeschia aethiopica* y 164 ppm para *Helianthus annuus*; la bioacumulación fue de 63.6 ppm en *Z. aethiopica* y 71.2 ppm en *H. annuus*, determinándose una respuesta bifásica para la especie *Z. aethiopica*, y un potencial de fitoextracción mayor en *H. annuus*. Se recomienda realizar ensayos en parcelas en el campo para poder estudiar la dinámica de las plantas fuera de la maceta y en condiciones ambientales reales y comprobar si la interacción con otros factores puede modificar las respuestas de las especies.

## PALABRAS CLAVE

<TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <TOXICOLOGÍA>, <BIOENSAYO>, <CROMO HEXAVALENTE>, <DOSIS LETAL>, <BIOACUMULACIÓN>, <CARTUCHO (*Zantedeschia aethiopica*)>, <GIRASOL (*Helianthus annuus*)>

## SUMMARY

This research is intended to examine the eco-toxicological effects of Chromium VI by developing bioassays with the vegetable species *Zantedeschia aethiopica* and *Helianthus annuus* for taking on board the environmental problems arising from the presence of Chromium VI contained in the industrial wastes; Throughout the study the adverse effect of chromium VI on the plant germination and growth were examined, quantified and qualified, from a bioassay solution of Dichromate of potassium with concentration of 0,50,100,200 and 300 ppm chromium; sample size at the germination stage was 30 experimental units of every specie and at the growing stage was 15 units; acute toxicity bioassay on seeds were carried out for 184 hours, the research design was absolutely randomized (DCA) in regarding the relative elongation of radicle (ER%), as well as the relative germination percentage (GR%) and the germination index (GI%) and thus, the plant growing was evaluated through the analysis (ACP) of principal components on the basis of the foliage width, the plant height and, the bioaccumulation accounts for 63,6 ppm in the case of *Z. aethiopica* and, a greater phytoextraction potential in the case of specie *H. annuus*. Therefore, it is advisable to perform bioassays into countryside small parcels so that it enables to study the plant dynamic not only from pot plant but also from plants produced in real environmental condition for testing if the interaction of other factors could modify the response of these species.

**RESEARCH KEY WORD:** <ENGINEERING SCIENCE AND TECHNOLOGY>  
<TOXICOLOGY> <BIOASSAY> <CHROMIUM HEXAVALENT> < LETHAL DOSE >  
<BIOACCUMULATION> <CALLA LILY SPECIE (*Zantedeschia aethiopica*)>  
<SUNFLOWER SPECIE (*Helianthus annuus*)>



## INTRODUCCIÓN

El cromo se ha definido como un contaminante ambiental en su valencia seis, por lo que se ha decidido estudiar el comportamiento de dos especies vegetales escogidas selectivamente ante la presencia de este metal, por lo que se ha planteado el problema de investigación: ¿Cómo la variación de la concentración de cromo VI en suelos cambian los efectos ecotoxicológicos de la especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*?

El cromo ingresa al suelo, agua y aire en sus valencias III y VI en procesos naturales o por actividades antropogénicas como refinación de minerales, elaboración de productos químicos, fabricación de cemento, elaboración de pastillas de freno de automóviles, fabricación de acero, el cromado, la fabricación de colorantes y pigmentos, preservación de la madera, procesos de curtiembre; por lo que se libera el cromo al ambiente contaminando generalmente los cuerpos de agua en donde se acumula en forma de barro en las orillas y cercanías.

Para citar un ejemplo en el área de influencia de una industria de curtiembre, las aguas residuales producto de los tratamientos químicos, son vertidos a los cuerpos de agua, en dónde para procesar una tonelada de piel se utilizan 452 kg de sustancias químicas, incluidas las que contienen cromo VI, de las cuales únicamente 72 kg de ellas quedan en el cuero, mientras que 380 kg se desechan; esto quiere decir que el 85% de las sustancias químicas utilizadas en el proceso quedan en el agua residual.

El cromo se bioacumula en plantas en los distintos órganos como raíz, tallo, hojas y flores generando afectaciones ya que este metal cruza con facilidad las membranas celulares, además por su carácter corrosivo irrita el tejido expuesto e incluso puede producir necrosis, clorosis, bajo porcentaje de germinación y alteraciones morfológicas que elevan el porcentaje de mortalidad; sin embargo las especies que sobreviven a la exposición de cromo son usadas como fuente de alimento por animales de granja afectando su salud.

En el ser humano el cromo VI se oxida fácilmente a cromo III que es eliminado en la orina, pero parte de este puede permanecer varios años en el organismo lo que produce la bioabsorción del metal, cuando este ingresa al organismo por ingestión su distribución es más rápida en el intestino que en el estómago produciendo irritación, úlceras, anemia y en algunos casos tumores estomacales, cuando el cromo VI es inhalado se distribuye preferentemente en los pulmones y produce irritación, secreción, problemas para respirar y alergias.

En el Ecuador no existen datos estadísticos acerca de la afectación en la salud por la exposición al cromo VI, pero existen casos a nivel internacional como en Hinkley-Estados Unidos en donde el 30% de la población fue afectada por el consumo de agua contaminada con cromo VI producto de la descarga de una industria de plásticos, causando cáncer y otras afectaciones a la salud.

En los últimos años se ha estudiado a la especie *Helianthus annuus* como planta fitorremediadora, determinándose su potencial de hiperacumuladora de varios metales pesados en los que se incluye el cromo VI; mientras que en la especie *Zantedeschia aethiopica* los últimos estudios acerca de evaluación de efectos tóxicos ante metales pesados han llegado solo a propuestas de fitorremediación en sistemas de humedales subsuperficiales, sin evaluar sus efectos y su potencial bioacumulador.

Ante lo expuesto anteriormente se propone la utilización de ambas especies para contrastar los resultados y para determinar el potencial de bioacumulación ante los efectos toxicológicos que produce el cromo VI, para lo que se utilizó bioensayos en la etapa de germinación y la etapa de crecimiento bajo condiciones controladas.

## JUSTIFICACIÓN

La presente investigación determinará las dosis letales de inhibición de la germinación para ambas especies con lo que se podrá estimar concentraciones umbrales y proponer técnicas de fitorremediación de suelos contaminados con cromo VI, además con el modelo matemático desarrollado se podrá realizar cálculos con los cuales se optimizará recursos en futuras investigaciones.

La originalidad del presente trabajo radica en la importancia de desarrollar estudios mediante bioensayos en especies vegetales no estudiadas en las condiciones propuestas como es el caso de *Zantedeschia aethiopica* con el fin de determinar posibles especies bioindicadoras del tóxico y su potencial de bioacumulación o fitorremediación en general.

El desarrollo del presente estudio en las etapas de germinación y crecimiento en los primeros meses de una planta es clave ya que en estas se desarrollan procesos fisiológicos de supervivencia en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir en el desarrollo normal, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos.

El propósito de la presente investigación es generar datos acerca de concentración de inhibición, dosis letal, cargas máximas aceptables para cada una de las especies lo que contribuirá conocimientos técnicos y prácticos para futuras investigaciones, debido a que una vez evaluado los efectos ecotoxicológicos en los primeros meses, se podrá proponer técnicas de fitorremediación, dicha técnica puede ser la guía para la recuperación de suelos y aguas contaminados con cromo VI en diferentes ciudades del Ecuador; lo que reducirá paralelamente el porcentaje de afectación a la población cercana a dichas fuentes.

## OBJETIVOS

### *Objetivo General*

- Evaluar los efectos ecotoxicológicos del cromo VI mediante bioensayos en *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*.

### ***Objetivos Específicos***

- Conocer la carga máxima aceptable y la concentración de inhibición del 50% (DL<sub>50</sub>) de las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus* en las concentraciones 0, 50, 100, 200 y 300 ppm de cromo VI en el agua de riego.
- Evaluar los factores de bioacumulación, tolerancia, persistencia en las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus* contaminadas con cromo VI.
- Proponer un protocolo de bioensayos de condiciones para la utilización de las especies vegetales *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

### 1.1. Antecedentes de la investigación.

Existen pocos estudios sobre evaluación toxicológica en especies vegetales en el país, por lo que se hace referencia a investigaciones de Colombia, México, Argentina, entre otros; cabe destacar que dentro de las especies utilizadas en el presente trabajo, la *Zantedeschia aethiopica* es la menos ensayada por lo que no se cuenta con datos, mientras que *Heliantus annuus* posee una cantidad moderada de ensayos; de estos estudios se han compilado los más relevantes.

En la evaluación del efecto de la toxicidad del plomo en bioensayos con semillas y plantas, se realizaron bioensayos que consistieron en medir el efecto del plomo sobre la longitud de la radícula, el porcentaje de germinación relativo y el índice de germinación; obteniendo que *Calendula officinalis* y *Zea Mays* a concentraciones de 800 ppm presentan los primeros síntomas de toxicidad. (Do Carmo L, 2013, p.6).

Villalba Y, (2014, p.4) hace uso de cinco plantas vasculares para la determinación de los efectos ecotoxicológicos del plomo sobre la germinación y el crecimiento, en esta investigación se evidencia que a concentraciones bajas del metal se producen efectos positivos en el crecimiento de la planta, también denominado hormesis en la especie *Glycine max* en concentraciones de 6,25 y 50 ppm; mientras que a partir de 100 ppm se evidenciaron efectos tóxicos en todas las especies, finalmente se determinó que la especie *Zinnia elegans* es la más tolerante al metal por su alta  $CE_{50}$  calculado.

En el primer acercamiento al cromo VI en plantas se tiene el estudio en donde se comparó la sensibilidad de las especies vegetales *S.capricornutum* con *Lactuca sativa* para determinar el mejor indicador de toxicidad de medios contaminados con este metal, finalmente el estudio mostró que la especie más sensible fue *S. capricornium* el cual tuvo un valor de  $CE_{50-96h}$  de 0.29  $mgCr^{+6}/L$ . (Bohórquez P & Campos C, 2007, p. 83, <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium...>).

En el ensayo realizado con avena el efecto del cromo VI con concentraciones de 5,00 y 15,00  $mg/L$  causó inhibición en el crecimiento de la planta, en la producción de proteínas, disminución de biomasa y en la síntesis de clorofila; mientras que a la concentración de 1.25

mg/L se presentó hormesis en el crecimiento de la especie; en cuanto a la bioacumulación en las raíces se halló 0.464 mg Cr<sup>+6</sup>/g de vegetal y las hojas bioacumularon 0.36 mg Cr<sup>+6</sup>/g de vegetal. (Salvador M., 2014, p. 39-40, <http://dspace.unitru.edu.pe/xmlui...>).

Hasta aquí se ha hecho referencia a investigaciones en especies vegetales mediante bioensayos, a continuación se compila información de estudios realizados específicamente en el cartucho y el girasol.

Acerca de las investigaciones realizadas sobre las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*, se cita aquella en donde se utilizó a la primera especie para la remediación de aguas residuales provenientes de la industria de la curtiembre, la cual contiene cromo total entre otros contaminantes; la especie fue capaz de acumular el cromo principalmente en la raíz y en menor porcentaje en tallos, hojas y flor; por lo que se propone como una especie con potencial de fitorremediación. (Suárez A & Agudelo R, 2014, p. 8, <http://revistas.utadeo.edu.co/index.php...>)

La especie *Zantedeschia aethiopica* ha sido utilizada en su mayoría en sistemas subsuperficiales acuáticos por lo que es considerada una buena especie como planta emergente en pantanos de flujo horizontal, pues mejora la eficiencia de remoción de contaminantes, que por sí sola no lo realiza el ecosistema, además es estéticamente más agradable como método de fitorremediación (Suárez A, et al., 2014, p. 125, <http://www.unilibre.edu.co/revistaavances/avances-11/art6.pdf>).

En cuanto a *Helianthus annuus*, se sometió a la especie a una concentración de cromo (III); se determinó que 40 mg/L de Cr (III) no afectan significativamente la germinación de la especie, además se determinó que a menor edad de las plantas, éstas presentaron mayor tolerancia al metal, después de 15 días de exposición, las raíces acumularon 7400 mg/kg de cromo, mientras que en el tallo, la acumulación fue de 200 mg/kg de peso seco. (Quezada R and Varela E, s.f, p.5, [http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal\\_frvm...](http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal_frvm...)).

## **1.2. El cromo**

Según el número de oxidación el Cromo puede formar una variedad de compuestos como: cromosos (Cr II), crómicos (Cr III) y cromatos (Cromo VI), los dos últimos son usados en aplicaciones comerciales, pero solo las sales inorgánicas de cromo VI son considerados tóxicos. (Mencías y Mayero, 2000, p. 631)

El cromo hexavalente (cromo VI) por su propiedad ácido-oxidante y la capacidad de formar sales coloreadas e insolubles lo vuelven de mayor aplicación industrial; entre las sales más importantes están el dicromato de potasio, el trióxido de cromo y el dicromato sódico. (Silbergeld, 2012, <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem...>).

### 1.2.1. Usos del Cromo VI

Generalmente se utiliza como pigmento ya que posee una solubilidad limitada y una coloración intensa, se lo usa en varios procesos industriales según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (2012, [www.atsdr.cdc.gov/es](http://www.atsdr.cdc.gov/es)); estas actividades son:

- Fabricación de vidrios y esmaltes de color.
- Procesos de galvanoplastia.
- Fabricación de pigmentos inorgánicos.
- Conservación de la madera.
- Industria textil.
- Industria de Peletería.
- Fabricación de anticorrosivos.
- Industria de la curtiembre



**Figura 1-1.** Industria de la curtiembre

**Fuente:** Quijije L, 2013, <http://lizquijije505.blogspot.com/>.

### 1.2.2. Contaminación por cromo VI en suelos.

El suelo reside en un sistema dinámico que se compone de metales pesados que pueden llegar a ser elementos tóxicos como el cromo VI, pero no constituyen un peligro a la biota gracias a procesos geológicos que disponen a estos elementos en cantidades fijas y como sustancias insolubles; sin embargo las actividades humanas han provocado la acumulación de grandes cantidades de este tóxico en el suelo lo que ha alterado su dinamismo. (Bautista F, 1999, p.14, <https://www.researchgate.net/publication...>).

El cromo VI disponible en el suelo interactúa con elementos como arcillas, materia orgánica, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos, sulfatos y otros; con los cuales sufre una serie de cambios entre los que están la oxidación, reducción, precipitación, quelación, entre otros. (Bautista F, 1999, p.7, <https://www.researchgate.net/publication...>).

En el año 2007 se determinó la concentración de cromo VI en los suelos cercanos a las industrias como la curtiembre en la región de Murcia-España el contenido de cromo VI fue de 44,6 mg del metal por kilogramo de suelo. (Murcia F, 2014, p 2-4, <http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files...>)

El cromo VI es bioacumulativo con efectos nocivos para la salud e irreversibles en el ambiente a largo plazo por lo tanto es de suma importancia su estudio, evaluación y análisis para el control y remediación. (Lenoir C & Tornari G, 2004, p.18, <http://www.sustentabilidad.uai.edu...>).



**Figura 2-1.** Descargas de cromo VI en la zona industrial.

**Fuente:** Contreras M, s.f, <http://enes.unam.mx/?lang=es...>

### **1.2.3. Cromo VI como Tóxico Ambiental**

Los elementos más tóxicos para las plantas son el Cu, Ni, Zn y Bo, elementos como el Cd, Pb y Hg pueden estar en ciertas concentraciones de modo que no impide el desarrollo de la planta y entre los elementos tóxicos de gran importancia biológica de nivel moderado tenemos el Zn, Cr, Ni, Cu, Co, V, y W; finalmente los elementos considerados con una importancia biológica baja son Fe, Mo y Mn. (Nies 1999, Csuros y Csuros 2002 citado en Volke T, et.al, 2005, p.35, <http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib...>).

El cromo como contaminante de nivel moderado principalmente ingresa al agua suelo y aire de manera natural o por actividades antropogénicas, en forma de Cr III que es esencial para los

organismos y no tóxico mientras que el Cromo VI que es liberado en procesos industriales es tóxico para el ambiente y los organismos vivos (Resumen de Salud Pública: Cromo, 2012).

Según los manuales de vigilancia ambientales y epidemiológicas de la Organización Mundial de la Salud existen valores de referencia del cromo VI en aire, agua y suelos con y sin actividad antropogénica intensa, estos son:

- **Aire:** La concentración de cromo en aire no contaminado está entre 0.01 – 0.02 ug/m<sup>3</sup> y no causa afectación a la salud.
- **Agua:** La concentración natural de cromo varía de 0.1 a 5 ug/L, estos niveles pueden verse afectados por efluentes industriales y llegar hasta 25 ug/L.
- **Suelo:** Los niveles oscilan entre 125 mg/kg pero estos se afectan principalmente por el uso de fertilizantes y pueden llegar hasta 250 mg/kg . (Galvao, 1987, [http: bvsp.paho.org/bvsea/e/fulltext/cromo/cromo.pdf](http://bvsp.paho.org/bvsea/e/fulltext/cromo/cromo.pdf)).

#### 1.2.4. *Estudios Toxicológicos con Cromo VI*

Existen varios estudios acerca de la evaluación toxicológica del cromo VI sobre especies biológicas usando bioensayos o también conocidas como pruebas de toxicidad, las especies más estudiadas como especies sensibles a la toxicidad de especies químicas son las plantas vasculares como cebolla, lechuga, trigo, betarraga, rabanito, entre otras), algunas especies de algas y macro invertebrados como la *daphnia magna* con sus propios protocolos. (Calow, 1993 citado en: Prieto J, 2009; <http://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf>).

En cuanto a la evaluación de toxicidad del cromo VI, los estudios tienen como factor común el uso de pruebas de fitotoxicidad como herramientas para la evaluación del riesgo ecotoxicológico; las pruebas de toxicidad utilizan parámetros toxicológicos como el índice de germinación, crecimiento de plántulas y producción de biomasa, para evaluar dosis y concentraciones letales. (López J, et al., s.f, <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54016203>).

Los ensayos de fitotoxicidad con plantas son ventajosos por su facilidad en la germinación y el crecimiento, la versatilidad y utilidad para evaluar la toxicidad de aguas, sedimentos y muestras de suelo, generalmente para estos ensayos se suele seguir el protocolo 208 de la OECD de directrices para la evaluación de sustancias químicas en la germinación y el crecimiento de plántulas. (Wang, 1991; citado en: J. Iannacone, 2005, <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid...>).

A continuación se encuentra el marco conceptual que hace referencia a las especies vegetales utilizadas en la presente investigación:

### 1.3. **Helianthus annuus (Girasol)**

La especie *Helianthus annuus* o llamada vulgarmente girasol, es una especie vegetal originaria de México y del oeste de Estados Unidos, llega a medir hasta tres metros de largo según su tipo pues también existe el girasol enano que no sobrepasa el metro de altura; es una planta anual con un gran desarrollo en todos sus órganos, es de la familia *Asteraceae* del género *Helianthus* de alrededor de 68 especies siendo la más importante *Helianthus annuus*. (Vibrans H, 2009, <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico...>).



**Figura 3-1.** Especie *Helianthus annuus*

**Fuente:** Maldonado Z.R, s.f, <http://catarina.udlap.mx...>

#### 1.3.1. **Características de la especie *Helianthus annuus***

La raíz del girasol es pivotante, formada por una principal que llega hasta cuatro metros de profundidad; su tallo es recto, macizo y cilíndrico; sus hojas son alternas, grandes y varían entre 12 a 40; en cuanto a los requerimientos se adapta a temperaturas desde 13° a 30°C, es resistente a la sequía, por su capacidad radicular extrae gran cantidad de nutrientes del suelo por lo que para su correcto desarrollo se debe fertilizar con 40 a 60 Kg/ha de nitrógeno y 40 Kg/ha de fósforo (Maldonado Z.R, s.f, <http://catarina.udlap.mx...>) .

La época de maduración del girasol depende de las temperaturas y el fotoperíodo por lo que se puede cultivar durante todo el año, aunque para mejores resultados se prefiere la plantación desde finales de invierno hasta principios de verano, obteniendo así una maduración de la planta entre 87 y 32 días. (Aguilar J, 2001, <http://www.bio-nica.info/biblioteca...>).

### **1.3.2. Uso en Bioensayos de la especie *Helianthus annuus***

El girasol por su alta capacidad radicular es una planta ampliamente reconocida como fitorremediadora, se ha reportado que puede extraer del 10 al 25% de los metales del suelo, ya que estas plantas no son fácilmente afectadas por los contaminantes; esta especie absorbe metales pesados en grandes cantidades por lo que se considera una planta hiperacumuladora para Cadmio, Zinc, Plomo, Cromo (III), Cromo (VI), Arsénico, Bismuto, Cadmio, Cobre, Manganeso, Titanio, Zinc y elementos radiactivos. (Munn, et al., 2008, De la Rosa et al., 2008; Davies et al., 2002, Boonyapookana et al., 2006; Christie et al., 2004; citado en: Gutiérrez L.R et al., 2011, pp.50-51, <http://uniciencia.ambientalex.info/revistas/vol2n14.pdf>).

Las concentraciones de cromo en girasol de acuerdo a Becerril J.M, (1998; citado en: Araiza J, et al., 2006, pp.4, <http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/morelia...>) están directamente relacionadas con la concentración del metal pesado en suelo por lo que si en el suelo existe una gran concentración de cromo se espera que se halle mayor cantidad del metal en el tejido de la especie vegetal.

### **1.4. *Zantedeschia aethiopica* (Cartucho)**

La especie *Zantedeschia aethiopica* conocida con los nombres vulgares de alcatraz, cartucho, cala o calla, es una especie vegetal vascular, monocotiledónea originaria de Sudáfrica naturalizada en varios países y regiones, crecen aproximadamente hasta un metro de altura, sus hojas son simples de 15 a 40 cm de largo y 6.8 a 24.5 cm de ancho, se desarrollan de forma silvestre en ambientes húmedos por eso se los encuentra a lo largo de los canales de riego, zanjas de desagüe, orillas de cuerpos de agua, potreros en regiones húmedas, etc. (Vibrans Heike, 2009, <http://www.conabio.gob.mx...>)

La época de floración de *Zantedeschia aethiopica* inicia a comienzos de primavera y hasta finalizado el verano en donde presenta su flores de forma continua por lo que requiere de mucha agua; se estima que el tiempo de floración de la especie es de 8 a 11 meses. (UNAD, s.f).



**Figura 4-1.** Especie *Zantedeschia aethiopica*

Fuente: Maldonado Z.R, s.f, <http://catarina.udlap.mx...>

#### **1.4.1. Características de la especie *Zantedeschia aethiopica***

Presenta una raíz modificada conocida como bulbo o rizoma donde se almacena los nutrientes necesarios, nacen varios tallos con dos hojas y una flor al final de este, las hojas son pecioladas, enteras y lobadas; crece en ambientes con constante humedad, en suelos profundos y ricos en materia orgánica, a temperaturas promedio entre 12-23 °C, en cuanto a los nutrientes la planta requiere N, P, K y Ca para su correcto desarrollo por lo que se recomienda aplicar 90 Kg de Nitrógeno /Ha. (Hernandez E, 2013, pp.5, <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32264...>).

#### **1.4.2. Uso en Bioensayos de la especie *Zantedeschia aethiopica*.**

La *Zantedeschia aethiopica* ha sido estudiada ampliamente como planta emergente en la remoción de contaminantes domésticos en los que se incluye el cromo VI, mas no existen estudios evaluando específicamente la evolución de esta especie ante la toxicidad de contaminantes como metales pesados mediante la especificidad que ofrecen los bioensayos o ensayos toxicológicos. (Figueroa J, 1999, pp. 2, <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico13/088.pdf>).

Se hizo gran referencia en la presente investigación al estudio denominado “Tratamiento de agua residual procedente de la industria de curtiembres mediante humedales subsuperficiales usando *Zantedeschia Aethiopica*”, en donde se muestran valores referenciales de tolerancia al

cromo VI, sin embargo no se realizan bioensayos para la demostración de sus efectos tóxicos. (Suárez A, et al., 2014, <http://www.unilibre.edu.co/revistaavances/avances-11/art6.pdf>).

## **1.5. Efectos y peligros del cromo en las plantas**

### **1.5.1. Afectaciones al crecimiento por Cromo VI**

Cuando el metal ingresa a la estructura de la planta se dan los siguientes procesos celulares que afectan de manera directa al crecimiento de la especie vegetal: inhibición de la actividad de las proteínas, el reemplazo y desplazamiento de nutrientes esenciales para el metabolismo de la planta, ruptura de la membrana vegetal y daños en el ADN produciendo transformaciones celulares que derivan en mutaciones y anomalías estructurales. (Airaki M, 2012, p.15, <http://hera.ugr.es/tesisugr/20745163.pdf>)

La inhibición de las funciones enzimáticas de las plantas produce los primeros efectos observables en la raíz ya que es el primero contacto con el cromo VI, por lo que se observa el acortamiento y mal formación tanto en la raíz principal como en las secundarias, de ahí que el resto del organismo experimente problemas de crecimiento, evidenciada con una clorosis generalizada, disminución de clorofila y finalmente necrosis. (González B, et al., 2006, pp. 3, [http://web.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-24.pdf](http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-24.pdf)). (Prieto J, 2009, p. 35, <http://www.redalyc.org/pdf/939...>).

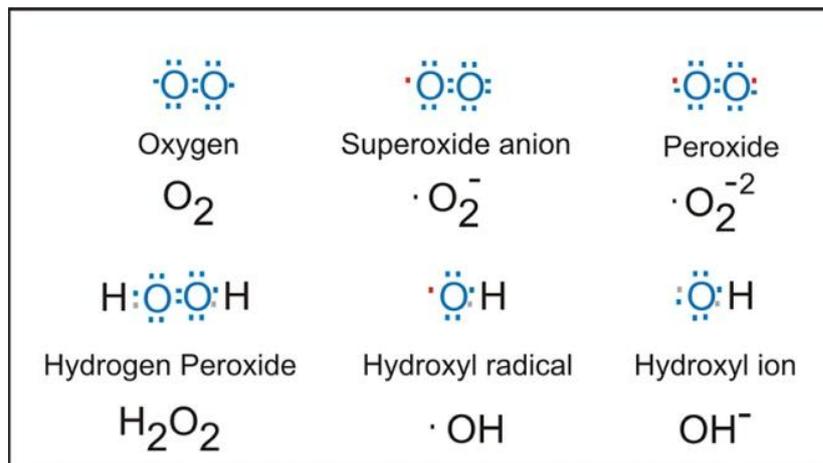
### **1.5.2. Cromo VI y procesos enzimáticos en plantas**

El cromo VI atraviesa con facilidad las membranas biológicas de las plantas y es llevado al interior de las células por medio del transportador de sulfato. (Borst - Pauwels G., 1981; citado en Hernández E, 2015, p. 11, <http://bdigital.dgse.uaa.mx...>).

El nivel de toxicidad del cromo VI se debe a uniones ligando metal creados en la célula, estas uniones se producen ya que los metales pesados en general tienen capacidad de unirse con moléculas orgánicas mediante ligandos como son: grupos sulfhidrilos, fosfato, hidroxilo, carboxilo y radicales amino, produciendo alteraciones en la célula como son: (Navarro-Aviño et al., 2007; citado en: Posada R, 2012, p.41, <http://datateca.unad.edu.co...>)

- Acción sobre proteínas por inhibición de su actividad o por disrupción en la estructura de las mismas debido a la oxidación de los grupos sulfhidrilo que dan lugar a los puentes de sulfuro que intervienen en el funcionamiento normal de la célula.

- El desplazamiento de elementos esenciales de su metabolismo (nutrientes), produciendo deficiencias en el correcto funcionamiento de la célula.
- La catálisis de reacciones de generación de moléculas ROS (Reactive Oxygen Species) o radicales libres que provocan fenómenos de estrés oxidativo.
- Peroxidación lipídica de membranas, causando rupturas y subproductos de las cadenas hidrocarbonadas.
- Presencia de daños sobre el ADN como son: mutaciones, alteraciones en la síntesis y reparación de ácidos nucleicos y transformaciones celulares. (Airaki M, 2012, p.15, <http://hera.ugr.es/tesisugr/20745163.pdf>)



**Figura 5-1.** Estructuras electrónicas de las ROS (Reactive Oxygen Species).

Fuente: Held P, 2014, <http://www.biotek.com/resources...>

La generación de peróxido de hidrógeno y radicales superóxido causa la oxidación de los lípidos presentes en la membrana de las células vegetales lo que produce anomalías en su crecimiento. (Kumar-Panda, 2007 citado en: Montoya W, et. al, 2015, p. 86, <http://limnetica.com/Limnetica/Limne34...>).

Cuando se inhiben las funciones de las enzimas y proteínas en la célula se da la disminución de la síntesis de clorofila que afecta la fijación del  $CO_2$  y el metabolismo de los carbohidratos. (González B, et al., 2006, p. 4, [http://web.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs...](http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs...)). (Prieto J, 2009, p. 35, <http://www.redalyc...>).

### 1.5.3. *Mecanismos de transporte del cromo VI en plantas.*

Debido a que el cromo VI posee un comportamiento electroquímico similar a los nutrientes indispensables para la planta, este es absorbido con facilidad y traslocado a los diferentes órganos del vegetal. (Lasat, 2000; citado en Ministerio de Agricultura de Chile, s.f, p.99, <http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos...>).

La absorción y posterior acumulación dependen de:

- El movimiento del cromo VI desde el suelo contaminado a la raíz de la planta.
- El traspaso del metal VI a través de las membranas de las células corticales de la raíz de la planta.
- Los iones inorgánicos y el agua junto con el cromo VI se transportan desde la raíz hasta las hojas mediante una serie de células tubulares del tejido leñoso (xilema), transportándose a los órganos aéreos de la planta como las hojas, semillas y frutos (AEET, 2007; citado en Ortega N, 2009, p. 12, <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789...>).

#### 1.5.4. *Necrosis por Cromo VI*

La necrosis junto con la clorosis y la reducción de la biomasa de la planta son los síntomas más visibles de la toxicidad del cromo VI (Wallnöfer y Engelhardt, 1984; citado en Barceló J & Poschenrieder Ch, 1992, p.352).



**Figura 6-1.** Necrosis en hojas de la especie *Helianthus annuus*.

**Fuente:** GUALLI, Cristian, MENA Andrés, 2016

Esta necrosis en hojas y tallos se produce por la creación y posterior acumulación de forma abundante de compuestos químicos; tales compuestos están conformados por especies reactivas de oxígeno o ERO (moléculas derivadas del oxígeno, radicales y no radicales) y las fitoalexinas productos derivados de la entrada del cromo VI en las células de la planta. (Benezer M, et.al., 2008, <http://www.scielo.org.mx/scielo.php...>).

La presencia de ERO y de fitoalexinas en la planta estimula el metabolismo de los fenoles, estas sustancias provocan reacciones en serie dentro de la planta que la vuelven hipersensible, reacciones tales como la exudación del contenido de células deterioradas al medio, estrés en las

células vecinas a las afectadas y muerte celular prematura en el lugar específico de la afección. (López C, s.f, [http://www.encuentros.uma.es/...](http://www.encuentros.uma.es/)).

### **1.5.5. Bioacumulación de Cromo VI**

Las plantas pueden adoptar distintas estrategias y mecanismos frente a la presencia de contaminantes ambientales como el cromo VI, son las siguientes: resistencia por el mecanismo de exclusión por lo que se limita el transporte del metal a la parte aérea de la planta; el otro mecanismo es bioacumular el metal en la parte aérea en una forma no tóxica para la planta. En este contexto se dice que todas las plantas son capaces de absorber metales del suelo donde se encuentran pero en diferentes porcentajes y con diferentes efectos nocivos. (Baker, 1981; Barceló et al., 2003; citado en: Prieto J, 2009, pp. 34, <http://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf>).

Es necesario mencionar que los órganos de las plantas difieren en su capacidad para acumular cromo VI, generalmente los niveles decrecen en el siguiente orden: raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas; las raíces tienden a acumular la mayor parte y son un sitio de almacenamiento así se previene una dosis tóxica al resto de órganos. (Orroño Daniela, 2002, pp.6, <http://ri.agro.uba.ar/files/download/tesis/doctorado/2011orronodanielaines.pdf>)

Se ha reportado que la bioacumulación del cromo VI en los tejidos vegetales en concentraciones que van desde 1 a 250 mg/l, induce clorosis en rábano, disminuye la concentración de clorofila en junco y genera pérdida de la integridad general de la hoja y necrosis en jacinto acuático. La concentración normal de cromo en plantas está entre 20 y 200 µg/kg de peso seco (PS) pero plantas como *Leptospermum scoparium*, *Sutera fodina* y *Dicoma niccolifera* pueden acumular hasta 20 g/kg en el tejido foliar. (Dube et al., 2005; Gruber et al., 2008; Brito-Paiva et al., 2009; citado en: Montoya W, 2015, pp. 86, [http://limnetica.com/Limnetica/Limne34/L34a085\\_Danos\\_ultraestructurales...](http://limnetica.com/Limnetica/Limne34/L34a085_Danos_ultraestructurales...)).

## CAPÍTULO II

### 2. METODOLOGÍA

#### 2.1. Metodología de la investigación

- **Tipo de Investigación:** La presente investigación es de tipo aplicada a la Biotecnología ambiental, en la rama de la toxicología ambiental.
- **Diseño de la Investigación:** Diseño experimental; en la presente investigación se manipuló el factor concentración de contaminante cromo VI (factor) y mediante análisis estadístico se obtuvo el índice de germinación, Dosis Letal ( $DL_{50}$ ), y Bioacumulación (Variables respuesta).

**Tabla 1-2.** Diseño Experimental utilizado en la investigación

Característica	Etapa de Germinación	Etapa de Crecimiento
Factor	Concentraciones de Cromo VI	Concentraciones de Cromo VI
Niveles	5 niveles (0, 50, 100, 200, 300 ppm)	5 niveles (0, 50, 100, 200, 300 ppm)
Objeto de estudio y variables respuesta	Efectos ecotoxicológicos: - Elongación radicular (%ER) - Potencial de Germinación (% GR) - Índice de toxicidad (%IG) - Dosis Letal ( $DL_{50}$ )	Efectos ecotoxicológicos: - Ancho Foliar - Necrosis - Altura de la planta - Bioacumulación
Población experimental	Total de semillas expuestas a cromo VI	Total de plantas expuestas a cromo VI
Elección de la muestra	Muestreo no probabilístico por conveniencia	Muestreo no probabilístico por conveniencia
Muestra	4 semillas por cada nivel establecido	3 plantas por cada nivel establecido
Tamaño muestral	6 repeticiones de cada concentración	3 repeticiones de cada concentración

Continuación		
Unidades Experimentales	30	15
Métodos de recolección de datos	Escala e inventario	Escala e inventario
Análisis Estadístico	Diseño Completamente Aleatorizado.	Análisis de Componentes Principales

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

- **Nivel de Investigación:**

-Descriptiva debido a que se detallan los efectos observables producidos en las especies en estudio en sus etapas de germinación y crecimiento.

-Explicativa porque se buscó relacionar la causa de la investigación con los efectos comprobados en cada especie.

-Predictiva pues se estableció un modelo matemático que explica el comportamiento de la bioacumulación en cada especie.

- **Enfoque:** Mixto; porque se integraron los enfoques tanto cualitativo como cuantitativo de las variables manipuladas y los datos obtenidos a través del diseño experimental.

## 2.2. Ubicación de la investigación.

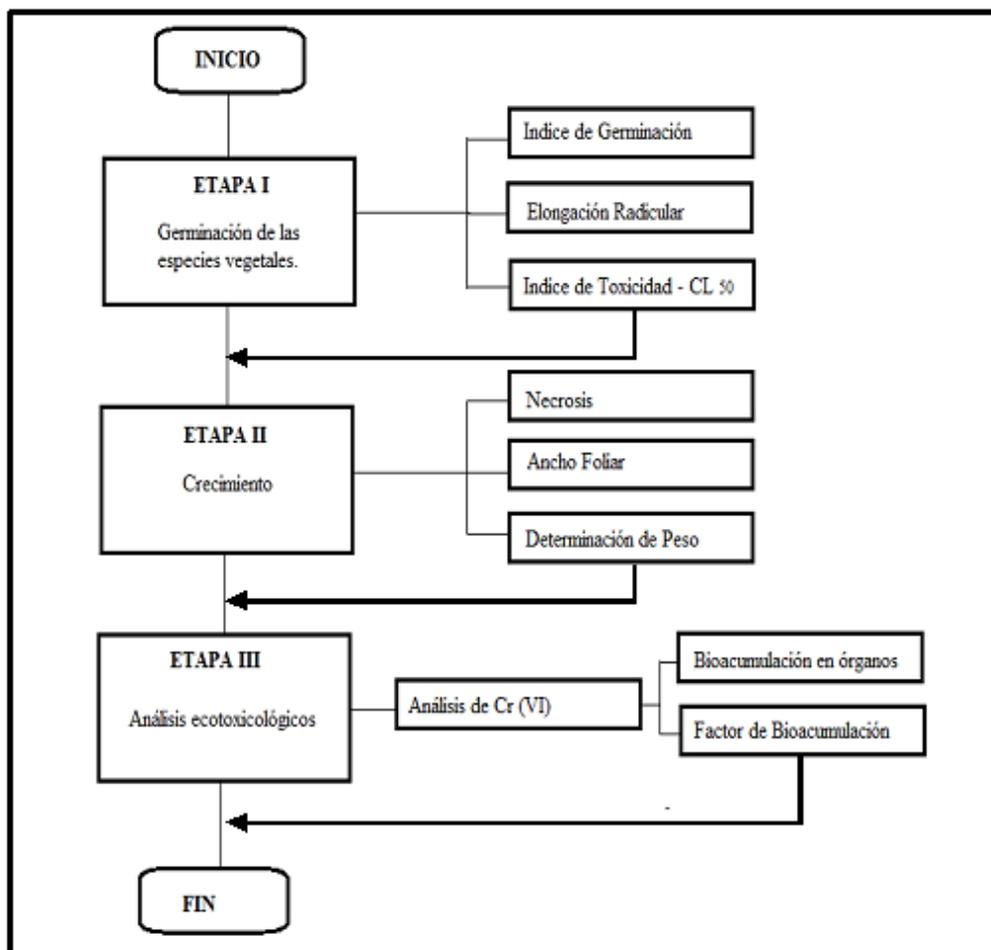
### 2.2.1. Lugar

La ubicación del invernadero fue en la Parroquia Maldonado, Av. Juan Félix Proaño y Filadelfia coordenadas 1°41'33.36"S 78°38'40.13"O, al sur de la ciudad de Riobamba (Anexo A); las características ambientales fueron las siguientes: altura 2750 m.s.n.m, temperatura media 13 °C, 62.4 % de humedad promedio y 2.5 m/s como velocidad promedio.

Además en el presente trabajo de investigación se contó con el apoyo del Laboratorio de Biotecnología Ambiental, ubicado la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas donde se realizó la etapa de germinación de las especies vegetales.

## 2.3. Lógica de la Investigación

Se detallaron los procedimientos y análisis en cada etapa de la investigación mediante la Figura 1-2 que se detalla en el siguiente organizador gráfico.



**Figura 1-2.** Lógica de la Investigación.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

A continuación se presenta la metodología utilizada en cada etapa considerada para la investigación en donde se detallan cada uno de los procedimientos.

### 2.3.1. *Etapa I: Germinación*

#### 2.3.1.1. *Preparación de la solución de dicromato de potasio para el riego*

Para preparar el agua de riego a las diferentes concentraciones de cromo VI, se procedió de la siguiente forma:

1. Se etiquetaron 5 botellas una por cada concentración de cromo VI.
2. Se colocó el equipo de protección antes de ingresar al laboratorio para preparar las soluciones.



**Figura 2-2.** Preparación de solución madre.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

3. Se prepararon diferentes concentraciones de dicromato de potasio a partir de una solución madre como se lo muestra en la Tabla 2-2.

**Tabla 2-1.** Concentraciones de cromo VI utilizadas en la investigación.

<b>Tratamiento</b>	<b>Concentración de Cr(VI) en el agua de riego (<math>\text{mgL}^{-1}</math>)</b>
Con 0 (control negativo)	0
Con 50	50
Con 100	100
Con 200	200
Con 300 (control positivo)	300

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

La tabla 2-2 esta formada por dos columnas, en la primera se encuentran los tratamientos de la investigación que fueron 5, mientras que en la segunda columna se encuentra el valor de dicho tratamiento en  $\text{mg/L}$ .

Las concentraciones fueron determinadas a través de bibliografía de estudios previos similares en donde se han registrado valores de hasta  $150 \text{ mg.L}^{-1}$  (Galvao, 1987, [bvspcr.paho.org/bvsea/e/fulltext/cromo/cromo.pdf](http://bvspcr.paho.org/bvsea/e/fulltext/cromo/cromo.pdf)); por esta razón se establecieron tres concentraciones por debajo de este valor y dos valores por encima, simultáneamente se hizo un control positivo de  $300 \text{ mgL}^{-1}$  y un control negativo con una concentración de cromo VI de  $0 \text{ mg.L}^{-1}$  por lo cual se regó únicamente con agua desionizada.



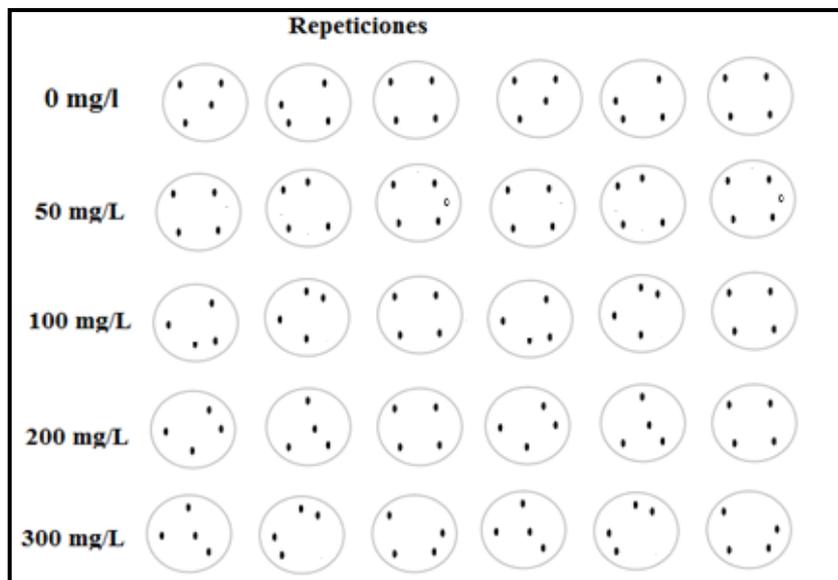
**Figura 3-2.** Diferentes concentraciones de cromo VI.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

Estas concentraciones de cromo sirvieron para el riego en la etapa de germinación de las dos especies vegetales.

### 2.3.1.2. Siembra en cajas Petri.

La primera etapa de la investigación corresponde a la germinación de las especies vegetales, por lo cual la siembra se realizó mediante el protocolo que indica la Figura 4-2.



**Figura 4-2.** Diferentes concentraciones de cromo VI.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

1. En el ensayo se utilizó cajas Petri de 10 cm de diámetro y a cada uno de ellas se las etiquetó dependiendo la concentración de cromo.

2. Con respecto a las semillas de *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*, se han utilizado semillas certificadas; esto garantizó uniformidad en el tamaño, color y forma para disminuir el grado de factores que varíen en la investigación.



**Figura 5-2.** Semillas certificadas de *Zantedeschia aethiopica*

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016



**Figura 6-2.** Semillas certificadas de *Helianthus annuus*.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

3. En la base de las cajas Petri se colocó papel filtro y algodón para el control de la humedad.



**Figura 7-2.** Etiquetado y preparación de cajas Petri.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

- Se procedió a depositar las 4 semillas de cada especie con una distancia necesaria entre ellas para realizar las observaciones respectivas como se muestra en la Figura 4-2, con lo que se obtuvieron 5 tratamientos con 5 repeticiones cada uno, y el control que fue humedecido con agua destilada.



**Figura 8-2.** Ubicación de semillas en las cajas Petri.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

- Se procedió al riego de 4mL con una solución con cromo VI en forma de Dicromato de Potasio a distintas concentraciones (0, 50, 100, 200, 300 mg Cr<sup>6+</sup>/L).



**Figura 9-2.** Riego de las cajas con Dicromato de Potasio.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

6. Para mantener condiciones de temperatura constante en cada caja Petri se las ubicó en una incubadora a 25 °C.



**Figura 10-2.** Cajas Petri ubicadas en la incubadora a 25 °C

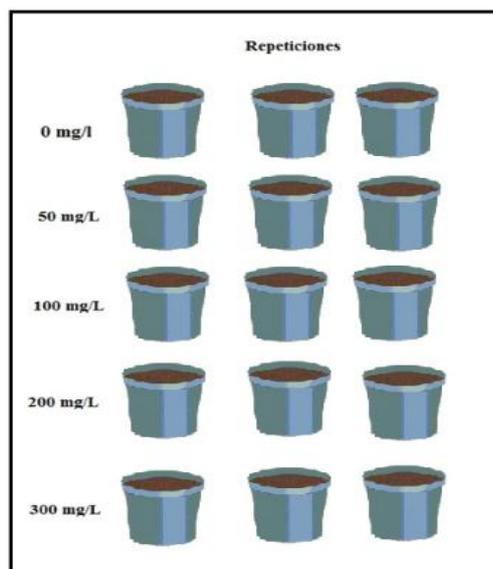
Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

El protocolo descrito anteriormente fue aplicado a las dos especies vegetales en estudio.

### 2.3.2. *Etapas II: Crecimiento.*

#### 2.3.2.1. *Protocolo de bioensayo para germinación*

En la especie vegetal se aplicaron cinco tratamientos, con dos repeticiones cada una, donde una maceta representó una repetición, como se muestra en la Figura 11-2.



**Figura 11-2.** Diseño de macetas en la Etapa II.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016



**Figura 12-2.** Etapa II: Crecimiento

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

Se procedió además a armar una estructura la cual nos ayudó a mantener el control de las muestras en cuanto a factores como humedad, temperatura y agentes externos que pudieron afectar el experimento.



**Figura 13-2.** Construcción de un Invernadero.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

### **2.3.2.2.** Armado del diseño en macetas.

Se procedió a armar las macetas de la siguiente manera:

1. Cada maceta contiene 7 kg de suelo fértil.



**Figura 14-2.** Pesaje de tierra fértil.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

2. La estructura que cubrió las macetas para obtener un ambiente controlado fue de plástico blanco y madera a manera de invernadero, esto para tener un control de temperatura y humedad presente en el medio.



**Figura 15-2.** Invernadero usado en la investigación.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

### **2.3.2.3.** *Siembra de las semillas en las macetas.*

Para la siembra se tomó en cuenta las características de cada especie en cuanto al tamaño de la semilla y tiempos de germinación y crecimiento, es así que se prepararon macetas con 7 kg de suelo que fue contaminado posteriormente con solución de dicromato de potasio en concentraciones de 50, 100, 200 y 300 mg  $\text{Cr}^{6+}/\text{L}$ . El suelo se dejó estabilizar durante 20 días para lograr la distribución del cromo VI entre las fracciones del suelo.



**Figura 16-2.** Distribución de macetas en el invernadero.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

Se procedió a sembrar 3 semillas en cada maceta, obteniendo un total de 4 tratamientos con 2 repeticiones cada uno y un blanco.



**Figura 17-2.** Siembra de semillas en macetas.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA Andrés, 2016

#### **2.3.2.4.** *Riego con concentraciones de Dicromato de Potasio.*

Para la evaluación del efecto de la presencia de Cromo VI en el suelo se procedió a regar el mismo con una solución de Dicromato de potasio en las concentraciones crecientes establecidas.

### 2.3.3. *Etapa 3: Análisis e interpretación de la información.*

Para el análisis estadístico pertinente de los valores a medir y comparar en esta etapa de la investigación se recurrió al uso de tres fórmulas que indicaron lo siguiente: el porcentaje de la germinación relativa de semillas (%GR), el porcentaje de crecimiento relativo de la raíz (%ER) y el índice de germinación (IG), de acuerdo a los autores (Hoekstra et al., 2002 y Walter et al., 2006; citado en: Rodríguez A et al., 2014), mediante las siguientes expresiones.

#### 2.3.3.1. *Porcentaje de germinación relativa (%GR)*

$$\%GR = \left( \frac{n_{GC}}{n_{GP}} \right) * 100 \quad (1)$$

**Dónde:**

%GR: Porcentaje de Germinación

$n_{GP}$ : Número de semillas germinadas en el agua problema

$n_{GC}$ : Número de semillas germinadas en agua (control).

#### 2.3.3.2. *Porcentaje de elongación radicular (%ER)*

$$\%ER = \left( \frac{l_{rp}}{l_{rc}} \right) * 100 \quad (2)$$

**Dónde:**

%ER: Porcentaje de elongación radicular

$l_{rp}$ : Longitud de la raíz en el agua problema

$l_{rc}$ : Longitud de la raíz en el agua de control (control).

#### 2.3.3.3. *Índice de germinación (IG)*

$$IG = \left( \frac{\%GR * \%ER}{100} \right) (3)$$

**Dónde:**

%GR: Porcentaje de Germinación

%ER: Porcentaje de elongación radicular

IG%: Índice de Germinación.

Se trataron los valores obtenidos en esta etapa mediante el estadístico Anova de un factor y se evaluó el efecto fitotóxico del Cromo VI a partir del índice de germinación aplicando el criterio de Emino y Warman (2004, <http://www.tandfonline.com...>) como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 2-2.** Criterios del Índice de Germinación.

Índice de Germinación (IG)	
>80%	No presenta fitotoxicidad
80-50%	Fitotoxicidad moderada
<50%	Alta fitotoxicidad

**Fuente:** Emino y Warman, 2004 (<http://www.tandfonline.com...>)

La tabla 3-2 muestra dos columnas, siendo la primera el valor del porcentaje del índice de germinación determinado por Emino y Warman, mientras que la segunda columna indica el juicio cualitativo que le dan los autores al nivel de porcentaje respectivo definiéndose en tres valores: alta, media y sin toxicidad.

#### **2.3.3.4.** *Indicadores de toxicidad*

Al cabo de cuatro meses de sembradas las semillas de ambas especies en las macetas se procedió a realizar las medidas de los indicadores que se anotaron a continuación:

- Concentración de Cr en la biomasa.
- Necrosis y anomalías.
- Ancho de la foliar.
- Altura de la planta.

#### **2.3.3.5.** *Estimación Dosis Letal*

Para la estimación de dosis letal ( $DL_{50}$ ) se partió de los datos obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda y se aplicó dos métodos para comprobar sus resultados.

### 2.3.3.6. Método Gráfico de Litchfield – Wilcoxon

Para el cálculo de la  $CE_{50}$  mediante este método se graficó el porcentaje de inhibición en función de las concentraciones utilizadas en la investigación; es necesario tener por lo menos, un porcentaje intermedio de efecto observado (valores entre 0 y 100% de efecto) y se determinó la  $DL_{50}$  por interpolación. (Emino y Warman, 2004, <http://www.tandfonline.com...>)

### 2.3.3.7. Regresión Probit

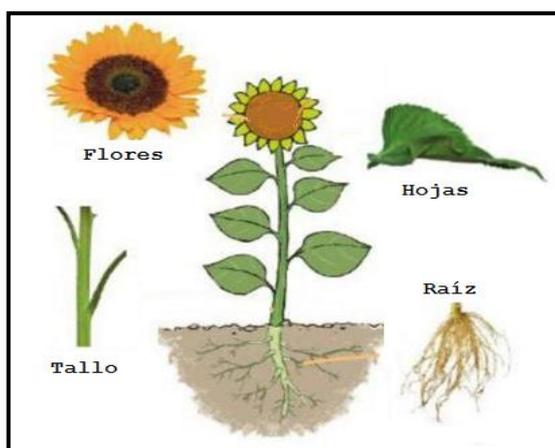
La regresión Probit es un tipo particular de regresión lineal que se construye para conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración de tóxico) y una variable dependiente (la respuesta=mortalidad) para una especie y un tiempo de exposición al tóxico (normalmente 48 o 96 horas).

Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transformó a unidades probit (eje Y) y la concentración de tóxico se transformó logarítmicamente (eje X).

El resultado fue una recta en la cual se pudo interpolar el 50% de la respuesta y se conoció el valor de la concentración del tóxico que causó esa respuesta ( $DL_{50}$ ).

### 2.3.3.6. Bioacumulación de cromo (VI)

La concentración de cromo VI se determinó en los diferentes órganos de la planta por análisis de espectrometría de absorción atómica como se muestra en la figura 2-18.



**Figura 18-2.** Planta separada en órganos para su análisis.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

Los datos se procesaron estadísticamente mediante un Análisis Anova de un factor y se aplicó un test de Tukey para realizar comparaciones múltiples de las medias, así mismo se le aplicó un Análisis de Componentes Principales.

#### **2.3.3.7. Factor de bioconcentración (FB)**

Se determinó el factor de bioconcentración para ambas especies por cada tratamiento, este factor se define como el cociente entre la bioconcentración de los órganos aéreos de la planta y la concentración disponible del tóxico en el suelo, útil para determinar si la especie evaluada es fitoextractora siempre y cuando el valor del factor sea mayor que 20. (McGrath y Zhao 2003, citado en :Do Carmo L, 2013)

#### **2.3.3.8. Factor de translocación (FT)**

Se determinó el factor de translocación para ambas especies por cada tratamiento, el factor está definido como el cociente entre la bioconcentración de los órganos aéreos de la planta y la bioconcentración en las raíces, este factor es necesario para determinar si la especie es fitoextractora si el FT es mayor que 1 y si es menor la especie será fitoestabilizadora. (Audet y Charest 2007; citado en: Medina K & Montano Y, 2014).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 3.1. Etapa I Germinación: Especie *Zantedeschia aethiopica*

##### 3.1.1. Porcentaje de Germinación Relativo (%GR)

El porcentaje de germinación relativo (%GR), se determinó a los 7 días de inicio del experimento, teniendo en cuenta cada repetición de las concentraciones diferentes de cromo, así se presentó a continuación.

**Tabla 1-3.** Número de semillas germinadas. Especie *Zantedeschia aethiopica*.

		Especie <i>Zantedeschia aethiopica</i> : Germinación				
		Con 0	Con 50	Con 100	Con 200	Con 300
Repeticiones	E1	4	4	3	1	1
	E2	4	4	4	2	0
	E3	4	4	3	0	1
	E4	3	4	1	2	1
	E5	4	4	1	0	0
	E6	3	4	3	1	1

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 1-3 se observó en la primera columna el número de repeticiones o experimentos, en las siguientes columnas se detalla el número de semillas germinadas en cada caja Petri con diferentes concentraciones de Cromo VI; los datos obtenidos de germinación se analizaron mediante Anova de un factor.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**H<sub>0</sub>:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la germinación de las semillas de la especie *Z. aethiopica*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la germinación de las semillas de la especie *Z. aethiopica*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 2-3.** Resultado ANOVA especie *Z. aethiopica*: número de semillas germinadas.

ANOVA: Semillas Germinadas					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.(p)
Entre grupos	54,800	4	13,700	24,176	0,000
Dentro de grupos	14,167	25	0,567		
Total	68,967	29			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión.**

Se realizó un análisis Anova en el cual se obtuvo un valor de  $P=0,00$  (Tabla 2-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa, que estableció la existencia de una diferencia significativa, es decir, que el potencial de germinación de la especie *Zantedeschia aethiopica* dependió de la dosis del tóxico a la cual fue expuesta por lo que fue diferente en al menos dos concentraciones.

Posteriormente se realizó un análisis de comparación utilizando el estadístico HDS Tukey como se presentó en la Tabla 3-3 para determinar en qué concentraciones no existió esta diferencia significativa.

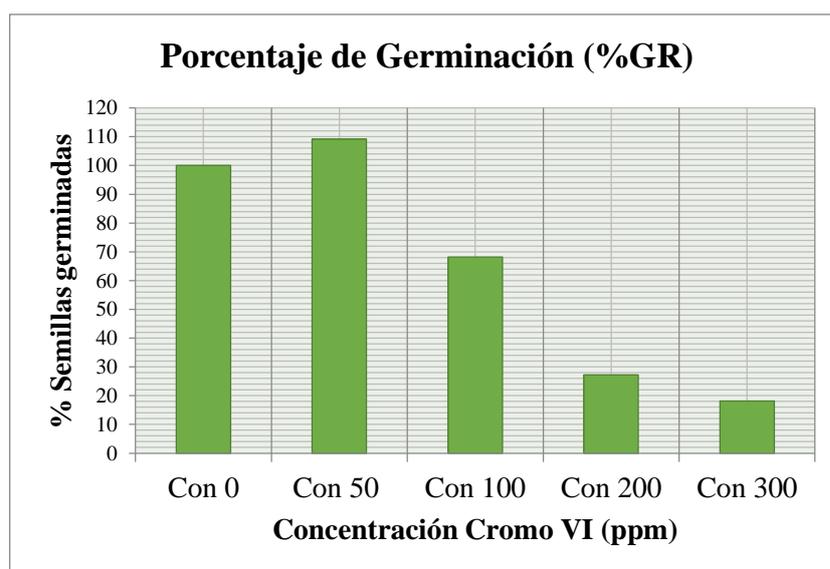
**Tabla 3-3.** Análisis de Tukey especie *Z. aethiopica*: Número de semillas germinadas.

(I) Concentraciones del experimento	(J) Concentraciones del experimento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. (p)	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-,333	,435	,938	-1,61	,94
	Con100	1,167	,435	,085	-,11	2,44
	Con200	2,667*	,435	,000	1,39	3,94
	Con300	3,000*	,435	,000	1,72	4,28
Con50	Con0	,333	,435	,938	-,94	1,61
	Continuación					

	Con100	1,500*	,435	,016	,22	2,78
	Con200	3,000*	,435	,000	1,72	4,28
	Con300	3,333*	,435	,000	2,06	4,61
Con100	Con0	-1,167	,435	,085	-2,44	,11
	Con50	-1,500*	,435	,016	-2,78	-,22
	Con200	1,500*	,435	,016	,22	2,78
	Con300	1,833*	,435	,002	,56	3,11
Con200	Con0	-2,667*	,435	,000	-3,94	-1,39
	Con50	-3,000*	,435	,000	-4,28	-1,72
	Con100	-1,500*	,435	,016	-2,78	-,22
	Con300	,333	,435	,938	-,94	1,61
Con300	Con0	-3,000*	,435	,000	-4,28	-1,72
	Con50	-3,333*	,435	,000	-4,61	-2,06
	Con100	-1,833*	,435	,002	-3,11	-,56
	Con200	-,333	,435	,938	-1,61	,94

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

Se observó en la primera columna de la tabla 3-3 las concentraciones de Cromo VI comparadas con concentraciones de la segunda columna. Se ha obtenido un valor de p para cada una de estas en la columna 5; se obtuvo como resultados que en las comparaciones Con0-Con50, Con0-Con100, Con50-Con100, Con100-Con200, Con200-Con300 el p valor fue de 0.938, 0.85, 0.16, 0.16, 0.938 respectivamente que fueron mayores a 0,05 por lo tanto no existieron diferencias significativas, así se dedujo que el potencial de germinación en estas comparaciones no está determinado por la presencia de Cromo VI a las cuales fueron expuestas.



**Gráfico 1-3.** Porcentaje semillas germinadas *Zantedeschia aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 1-3 se representó la variación porcentual de la germinación relativa de la *Zantedeschia aethiopica* según los diferentes tratamientos con Cromo VI, se pudo observar que en el tratamiento *Con 50* existió un potencial de germinación mayor que en el tratamiento de control por lo que se evidenció el fenómeno conocido como hormesis.

### 3.1.2. *Elongación Radicular: Zantedeschia aethiopica*

Uno de los factores más importantes en el ensayo de toxicidad fue determinar la respuesta en la elongación radicular a la exposición al tóxico por lo que en la Tabla 3-3 se anotaron los datos que registrados a los 7 días del ensayo.

**Tabla 4-3.** Medidas de la Elongación radicular a los 8 días. Especie: *Z. aethiopica*

Repetición	Elongación Radicular (cm)				
	Con 0	Con 50	Con 100	Con 200	Con 300
<b>E1</b>	1,6	1,5	0,7	0,8	0,4
<b>E2</b>	1,5	1,1	0,8	0,9	0
<b>E3</b>	1,1	0,3	0,6	0	0,5
<b>E4</b>	1,2	1	0,8	1	0,5
<b>E5</b>	1,3	1,2	0,7	0	0
<b>E6</b>	1,4	1,1	0,7	0,8	0,4

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

La tabla 4-3 consta en la primera fila de las concentraciones utilizadas en comparación a los experimentos realizados y los valores de la longitud de la raíz medida en centímetros, con estos valores se utilizó un Análisis de Variabilidad de un factor para determinar su diferencia significativa.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la longitud de la radícula en la especie *Z. aethiopica*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la longitud de la radícula en la especie *Z. aethiopica*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 5-3.** Resultados de la prueba ANOVA para el tamaño de raíz. Especie *Z. aethiopica*

ANOVA: Longitud de la Radícula					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,515	4	0,879	13,979	0,000
Dentro de grupos	1,572	25	0,063		
Total	5,087	29			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

El valor obtenido es de  $p=0,00$  (Tabla 5-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa es decir que existió una diferencia significativa entre la longitud de la raíz con la concentración de Cromo VI.

Para determinar los grupos en cuales existió diferencia significativa se realizó un análisis de comparación utilizando HDS Tukey.

**Tabla 6-3 .** Prueba Tukey del número de semillas germinadas especie: *Z. aethiopica*.

(I) Concentraciones del experimento	(J) Concentraciones del experimento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-,0500	,1448	0,997	-,475	,375
	Con100	,4333*	,1448	0,044	,008	,858
	Con200	,5667*	,1448	0,005	,142	,992
	Con300	,8500*	,1448	0,000	,425	1,275
Con50	Con0	,0500	,1448	0,997	-,375	,475
	Con100	,4833*	,1448	0,020	,058	,908
	Con200	,6167*	,1448	0,002	,192	1,042
	Con300	,9000*	,1448	0,000	,475	1,325
Con100	Con0	-,4333*	,1448	0,044	-,858	-,008
	Con50	-,4833*	,1448	0,020	-,908	-,058
	Con200	,1333	,1448	0,886	-,292	,558
	Con300	,4167	,1448	0,057	-,008	,842
Con200	Con0	-,5667*	,1448	0,005	-,992	-,142
	Con50	-,6167*	,1448	0,002	-1,042	-,192
	Con100	-,1333	,1448	0,886	-,558	,292
	Con300	,2833	,1448	0,315	-,142	,708

Continuación

Con300	Con0	-,8500*	,1448	0,000	-1,275	-,425
	Con50	-,9000*	,1448	0,000	-1,325	-,475
	Con100	-,4167	,1448	0,057	-,842	,008
	Con200	-,2833	,1448	0,315	-,708	,142

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

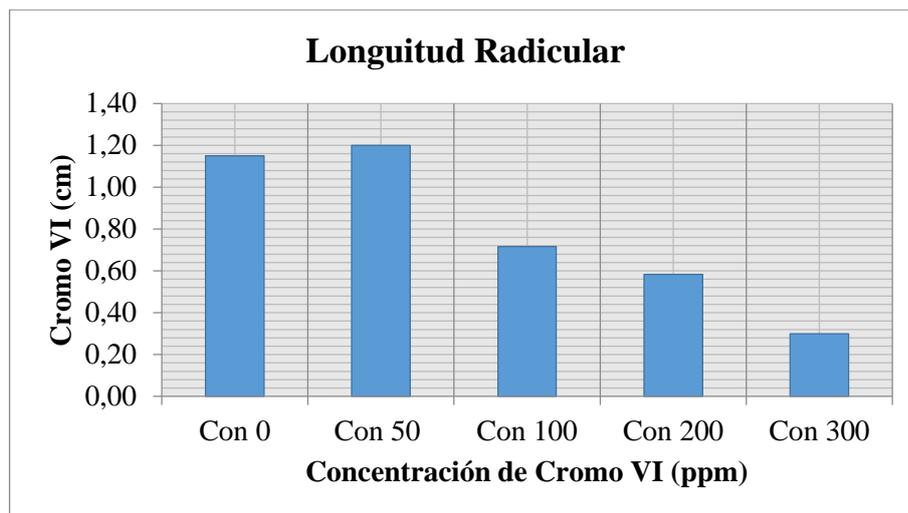
En la primera y segunda columna de la Tabla 6-3, se mostró la comparación de las concentraciones el p valor para cada una detallada en la quinta columna, así se obtuvo que entre los tratamientos Con0-Con50 ( $p=0,997$ ), Con100-Con200 ( $p=0,886$ ), Con100-Con300 ( $p=0,057$ ), Con200-Con300 ( $p=0,315$ ) no existió diferencias significativas, es decir que la concentración de Cromo VI no influyó en el crecimiento de la radícula.

**Tabla 7-3.** Subconjuntos Homogéneos, especie: *Zantedeschia aethiopica*.

Tamaño de la Raíz			
Concentraciones del experimento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Con300	6	,300	
Con200	6	,583	
Con100	6	,717	
Con0	6		1,150
Con50	6		1,200
Sig.		,057	,997

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 7-3 se pudo observar que se ha establecieron dos subconjuntos homogéneos, el primero conformado por los tratamientos Con300, Con200 y Con100; el segundo conformado con los tratamientos Con0 y Con50, entre estos dos subconjuntos existió diferencia significativa.

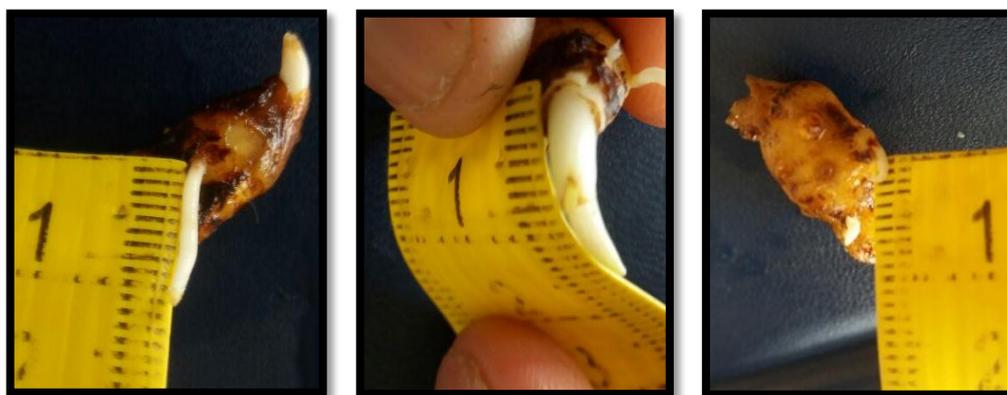


**Gráfico 2-3.** Longitud Radicular especie *Zantedeschia aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

A partir del Gráfico 2-3 de acuerdo con Calabrese y Baldwin (2002, pp. 177) se determinó una respuesta bifásica entre la dosis y la respuesta en el tratamiento Con 50, la relación de tipo hormética se ve caracteriza por estimulación a bajas dosis e inhibición con altas dosis como se presentó en la especie *Zantedeschia aethiopica*.

Este tipo de respuestas fue muy importante pues se demostró la presencia de estrategias de adaptación que la especie generó ante la presencia del cromo VI.



**Figura 1-3.** *Zantedeschia aethiopica*: Semillas en concentración 0 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la figura 1-3 se pudo apreciar las semillas usadas como control (0ppm) en las cuales no se apreció ningún cambio visible y se dió un crecimiento normal de la radícula.



**Figura 2-3.** *Zantedeschia aethiopica*: Semillas en concentración 50 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

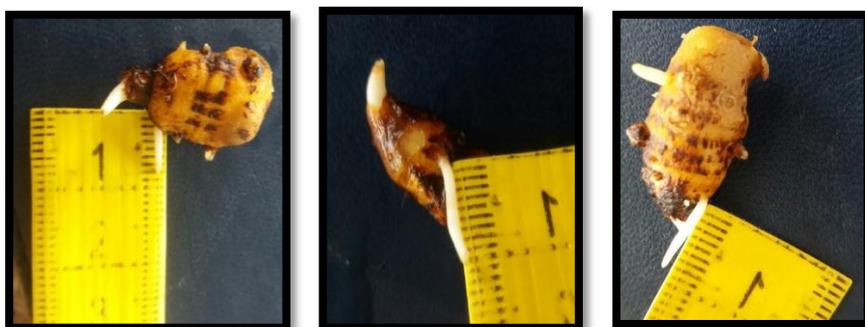
Se pudo observar en el tratamiento de 50 ppm (Figura 2-3) un crecimiento más rápido de la radícula al igual que sus raíces secundarias en el cual presenta un fenómeno hormético.



**Figura 3-3.** *Z. aethiopica*: Semillas en concentración 100 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

Para las concentraciones de 100 y 200 ppm (Figura 3-3 y Figura 4-3) se observó un crecimiento normal de la radícula en sus primeros 8 días de germinación además de la ausencia de cualquier cambio visible en la estructura de la semilla.



**Figura 4-3.** *Zantedeschia aethiopica*: Semillas en concentración 200 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

Posteriormente se fue dificultando su crecimiento radicular, de acuerdo a Silbergeld (2012, <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem...>) la toxicidad del Cromo VI en el interior de la especie vegetal en su fase de exposición generó un lento desarrollo de la raíz que se evidenció a los 16 días de su germinación (ANEXO D).



**Figura 5-3.** *Zantedeschia aethiopica*: Semillas en concentración 300 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración 300 ppm (Figura 5-3) existió una disminución del crecimiento radicular en comparación al control; según Wallnöfer y Engelhardt (1984; citado en Barceló J & Poschenrieder Ch, 1992, p.352) el efecto tóxico se manifestó en la raíz en forma de necrosis, lentificación del crecimiento de la radícula y cambios de color que fueron más visibles a los 16 días del ensayo (ANEXO D).

### 3.1.3. Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%): *Zantedeschia aethiopica*.

Para el cálculo del Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%) se utilizó las fórmulas 1,2 y 3 descritas en el punto 2.3.3 del capítulo dos correspondiente a la metodología; mientras que para el análisis cualitativo se basó en el criterio Emino y Warman (2004, <http://www.tandfonline.com...>).

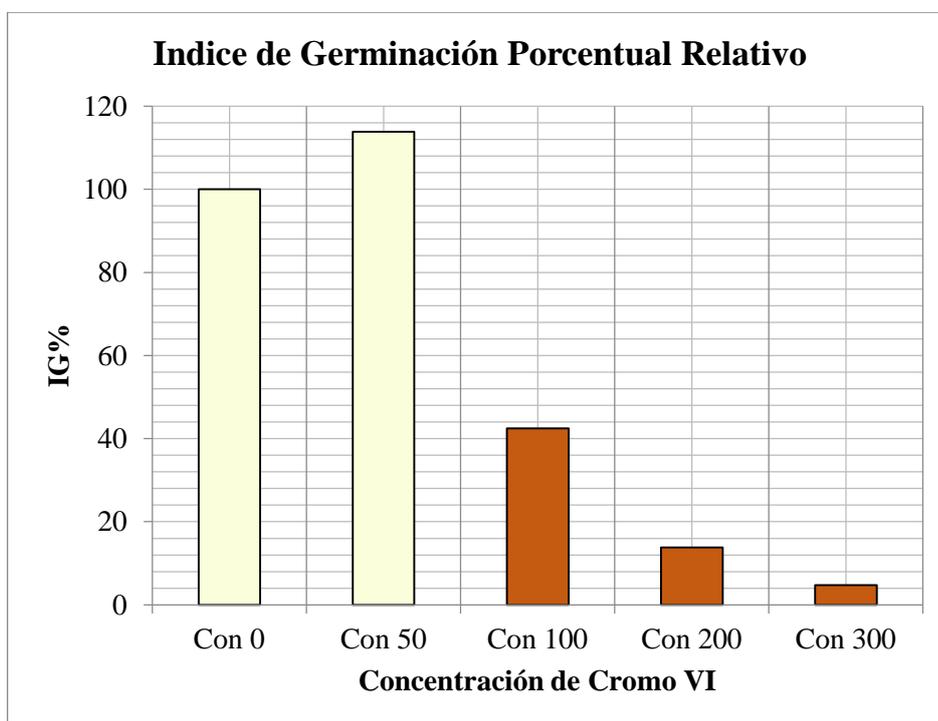
**Tabla 8-3.** Resultados etapa de Germinación en la especie *Z. aethiopica*.

	<b>%GR</b>	<b>ER%</b>	<b>IG%</b>
Con 0	100,0	100,0	100,0
Con 50	109,1	104,3	113,8
Con 100	68,2	62,3	42,5
Con 200	27,3	50,7	13,8
Con 300	18,2	26,1	4,7

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

Los valores obtenidos en la etapa de germinación de la especie *Zantedeschia aethiopica* se presentaron en la tabla 8-3; mediante estos datos se determinó que en las concentraciones de 0 y 50 ppm no se presentó fitotoxicidad, la primera concentración porque fue el control del experimento y la segunda por la presencia de una respuesta hormética.

En las concentraciones de 100, 200 y 300 ppm se obtuvieron valores menores al 50% (Gráfico 9-3) lo que indicó que hubo un fuerte efecto tóxico del cromo VI en la especie *Zantedeschia aethiopica*.



**Gráfico 3-3.** Índice de Germinación especie: *Zantedeschia aethiopica*

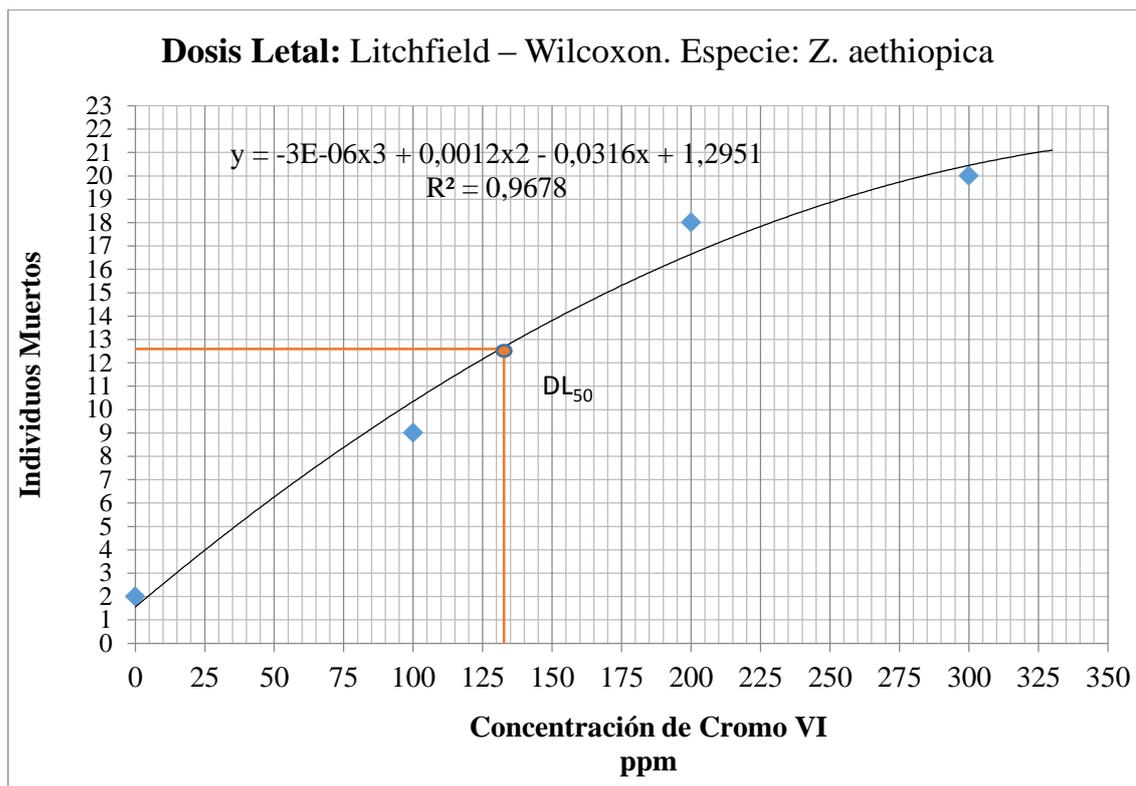
Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

### 3.1.4. Dosis Letal: *Zantedeschia aethiopica*

Para obtener la  $DL_{50}$  se utilizaron dos métodos descritos a continuación.

#### 3.1.4.1. Método gráfico de Litchfield – Wilcoxon.

Con los datos de individuos muertos se elaboró un gráfico de dosis-respuesta, se colocó en el eje de las ordenadas el número de semillas no germinadas y en el eje de las abscisas la concentración de Cromo VI, se consideraron los valores obtenidos más cercanos al 50% de inhibición y se ajustaron los datos a un modelo de regresión cúbica (Gráfico 4-3).



**Gráfico 4-3.** Método Litchfield – Wilcoxon, Dosis-Respuesta especie: *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

La representación Gráfica 4-3 mostró una función cúbica la cual fue una curva de tipo suave e inyectiva, la misma indicó que la relación dosis-respuesta es creciente, pero se observó que idealmente se aproximó a una hipérbola que mostró cómo al aumentar la dosis se incrementó el efecto hasta llegar a una dosis en la que alcanzó un efecto máximo (Dm).

A partir de la ecuación obtenida:  $y = -3E-06x^3 + 0,0012x^2 - 0,0316x + 1,2951$  que explica una función cúbica, se obtuvo la dosis a la cual el 50 % de individuos mueren.

**Tabla 9-3.** Datos de Dosis-Respuesta por el Método gráfico Litchfield – Wilcoxon.

Parámetro	Valor	Observaciones
Pendiente:	0,063	
Intercepción:	2,8	
Valor prueba:	12	Representa el 50 % de los individuos usados en el experimento.
DL <sub>50</sub>	146,031	ppm de Cromo VI

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 9-3 se observaron los datos obtenidos para la ecuación de la recta con lo que se determinó la DL<sub>50</sub> de la especie *Zantedeschia aethiopica* que fue de 146 ppm de Cr, valor que estableció que a esa concentración la mitad de los individuos mueren por efectos de la toxicidad del cromo VI en solución acuosa.

### 3.1.4.2. Método Probit

Para calcular la DL<sub>50</sub> fue necesario realizar una regresión que relacionó el tratamiento con la respuesta sobre el índice de germinación; se rerepresentó la mortalidad acumulada en porcentaje (en el eje Y) y la concentración en el eje X en escala logarítmica; y se obtuvo una respuesta con un gráfico de la función de tipo sigmoidea.

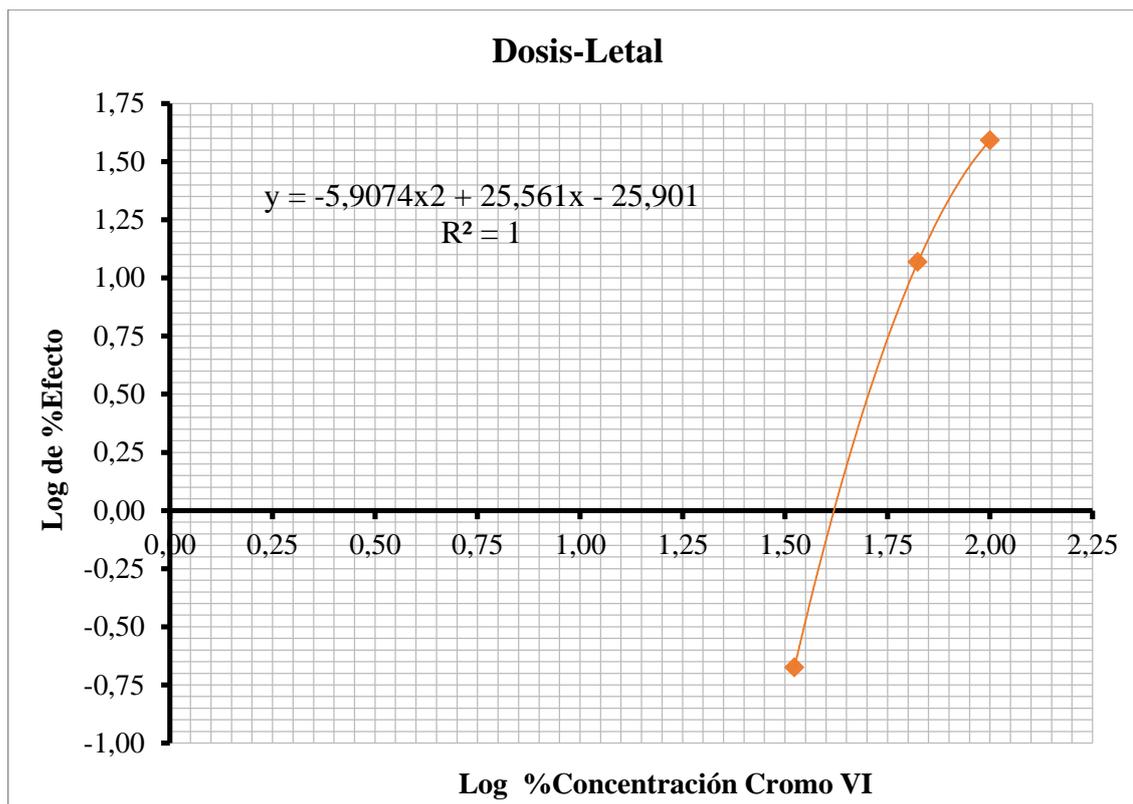
**Tabla 10-3.** Transformación escala Probit: Cálculo de DL<sub>50</sub> especie *Z. aethiopica*.

Concentración ppm	Concentración C%	Log C%	Individuos vivos	Individuos muertos	% Efecto (P)	Corrección n Co. P	LogIn (Co. P)	Probit (p)
0	0,0	-	22	2	0,08	-	-	-
50	16,7	1,222	24	0	0,00	-	-	-
100	33,3	1,523	15	9	0,38	0,318	-0,675	4,527
200	66,7	1,824	6	18	0,75	0,727	1,06	5,605
300	100,0	2,000	4	20	0,83	0,818	1,591	5,908

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 10-3 se presentó en la octava columna el logaritmo natural del efecto, mientras que en la tercera columna se calculó el logaritmo natural de las concentraciones utilizadas en el ensayo; estas variables fueron necesarias para la realización de la grafica Dosis-Respuesta.

La curva que se obtuvo en la Grafica 5-3 fue suave de tipo creciente e inyectiva; en este gráfico se aproximó a una respuesta del 0% (log= -0,50) a medida que disminuyó la dosis y al 100% (log= 2) cuando aumentó, sin embargo el porcentaje de dosis letal se representó en la intersección con el log= 0,00.



**Gráfico 5-3.** Dosis-Letal: Curva Sigmoidea especie: *Zantedeschia aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

A partir de la ecuación cuadrática obtenida  $y = -5,9074x^2 + 25,561x - 25,901$  se calcularon los siguientes parámetros.

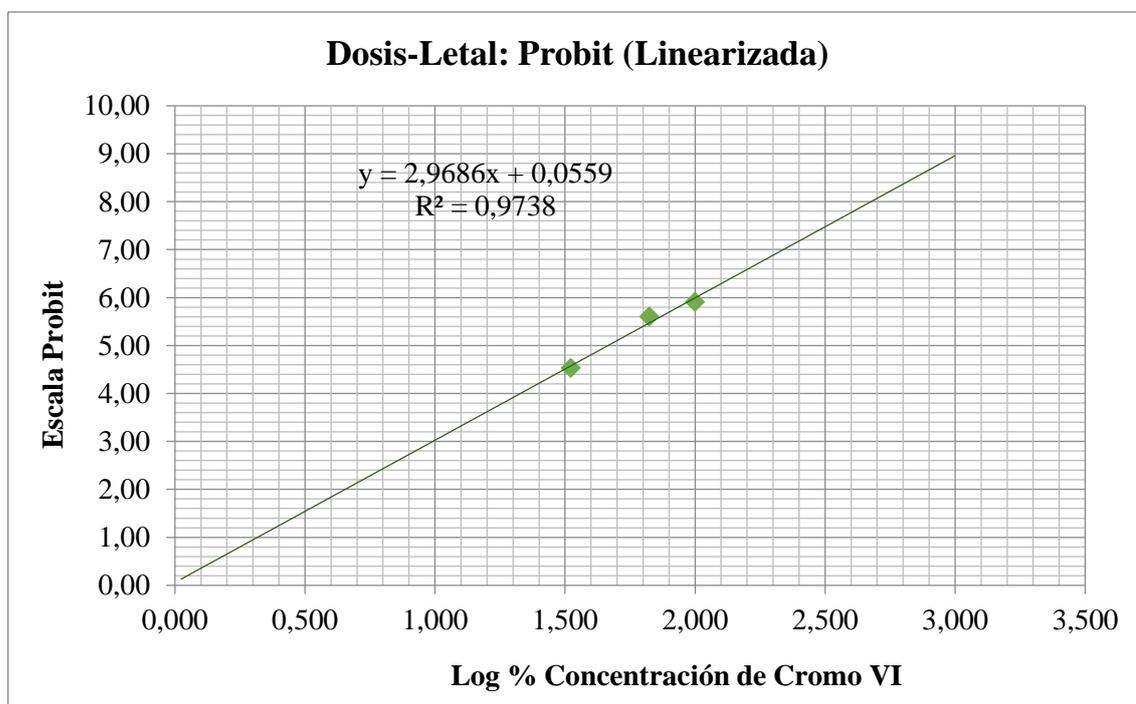
**Tabla 11-3.** Parámetros de la Curva Dosis-Respuesta. Especie *Z. aethiopica*

Parámetro	Valor
Pendiente	4,86178839
Intercepción	-8,0037162
Valor prueba	0
Log(C%)	1,6462494
DL50 (% 100)	44,2842604
DI50 Calculada	132,852781

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

De acuerdo con la Tabla 11-3, en la séptima fila se mostró el resultado de  $DL_{50}$  el cual fue de 132 ppm, para este cálculo se utilizó un valor de prueba de 0 que representa el 50% de individuos muertos en escala logarítmica.

El objetivo principal de la transformación probit fue hacer lineal la relación dosis-respuesta, esta transformación procede de la Normal Equivalent Deviation (NED).



**Gráfico 6-3.** Dosis-Letal: Probit (Linearizada) especie *Zantedeschia aethiopica*

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 6-3 la función que se representó fue de tipo lineal en donde, el eje de las ordenadas correspondió a la escala Probit del efecto en la germinación de la *Z. aethiopica*, mientras en el eje de las abscisas correspondió a las concentraciones de Cromo VI utilizadas en la investigación. A partir del gráfico se determinó su  $DL_{50}$  que se mostró a continuación

**Tabla 12-3.** Parámetros de la Curva Linearizada de Dosis-Respuesta

Parámetro	Valor
Pendiente	2,96861465
Intercepción	0,05590082
Valor prueba	5
Log(C%)	1,66545671
DL50 (% 100)	46,2867524
DL50 Calculada	138,860257

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 12-3 se presentaron los valores obtenidos a partir de la ecuación lineal  $y = 2,9686x + 0,0559$ ; se utilizó un valor de prueba de 5 que representó el 50% de individuos muertos en escala Probit y resultó un valor de 139 ppm de cromo VI para la  $DL_{50}$  de *Z. aethiopica*.

### 3.2. Etapa I Germinación: Especie *Helianthus annuus*

#### 3.2.1. Porcentaje de Germinación Relativo (%GR)

A los 7 días de inicio del experimento se determinó el porcentaje de germinación relativo (%GR), teniendo en cuenta cada repetición de las concentraciones diferentes de cromo VI.

**Tabla 13-3.** Semillas germinadas. Especie *Helianthus annuus*.

		Concentraciones de Cromo 6+				
		Con 0	Con 50	Con 100	Con 200	Con 300
Repeticiones	E1	4	4	3	2	1
	E2	4	2	3	1	0
	E3	3	3	4	2	2
	E4	4	3	1	1	1
	E5	4	2	3	2	0
	E6	3	4	2	1	1

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 13-3 la fila dos presentó las concentraciones de Cromo VI utilizadas en el ensayo mientras que en la segunda columna se representó el experimento realizado, estos valores correspondieron al número de semillas germinadas por cada tratamiento; estos valores se analizaron mediante una análisis Anova a un nivel de significancia de 0,05.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**H<sub>0</sub>:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y germinación de la semilla en la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**H<sub>i</sub>:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y germinación de la semilla en la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 14-3.** Resultado prueba ANOVA del número de semillas germinadas especie *H. annuus*

ANOVA: Número de semillas germinadas					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig. (p)
Entre grupos	31,667	4	7,917	13,19	0,000
Dentro de grupos	15,000	25	0,600		
Total	46,667	29			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

Mediante el análisis Anova se obtuvo un valor de  $p=0,00$  (Tabla 14-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa que estableció la existencia de una diferencia significativa en el potencial de germinación de la especie *Helianthus annuus* con la dosis del tóxico a cual fue expuesta.

Posteriormente se realizó un análisis de comparación utilizando HDS Tukey como se presenta en la Tabla 15-3, con lo que se realizó el análisis de las concentraciones en las que existió diferencias significativas.

**Tabla 15-3.** Resultado prueba Tukey del número de semillas germinadas especie: *H. annuus*.

(I) Concentraciones del experimento	(J) Concentraciones del experimento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	,667	,447	,578	-,65	1,98
	Con100	1,000	,447	,200	-,31	2,31
	Con200	2,167*	,447	,000	,85	3,48
	Con300	2,833*	,447	,000	1,52	4,15
Con50	Con0	-,667	,447	,578	-1,98	,65
	Con100	,333	,447	,944	-,98	1,65
	Con200	1,500*	,447	,020	,19	2,81
	Con300	2,167*	,447	,000	,85	3,48
Con100	Con0	-1,000	,447	,200	-2,31	,31
	Con50	-,333	,447	,944	-1,65	,98
	Con200	1,167	,447	,099	-,15	2,48
						Continuación

	Con300	1,833 <sup>*</sup>	,447	,003	,52	3,15
Con200	Con0	-2,167 <sup>*</sup>	,447	,000	-3,48	-,85
	Con50	-1,500 <sup>*</sup>	,447	,020	-2,81	-,19
	Con100	-1,167	,447	,099	-2,48	,15
	Con300	,667	,447	,578	-,65	1,98
Con300	Con0	-2,833 <sup>*</sup>	,447	,000	-4,15	-1,52
	Con50	-2,167 <sup>*</sup>	,447	,000	-3,48	-,85
	Con100	-1,833 <sup>*</sup>	,447	,003	-3,15	-,52
	Con200	-,667	,447	,578	-1,98	,65

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

Se pudo observar en la primera columna las concentraciones de Cromo VI que fueron comparadas con las concentraciones de cromo VI restantes de la segunda columna y se obtuvo un valor de p para cada una de estas el mismo que se anotó en la columna 5.

En las comparaciones de los tratamientos Con0-Con50, Con0-Con100, Con50-Con100, Con50-Con200; Con100-Con200, Con200-Con300 se obtiene un p valor de 0.578, 0.20, 0.944, 0.20, 0.09 y 0,447 respectivamente, estos valores fueron mayores a 0.05, por lo tanto no existieron diferencias significativas, es por eso que el potencial de germinación en estas comparaciones no está determinado por la presencia de Cromo VI a las cuales fueron expuestas.

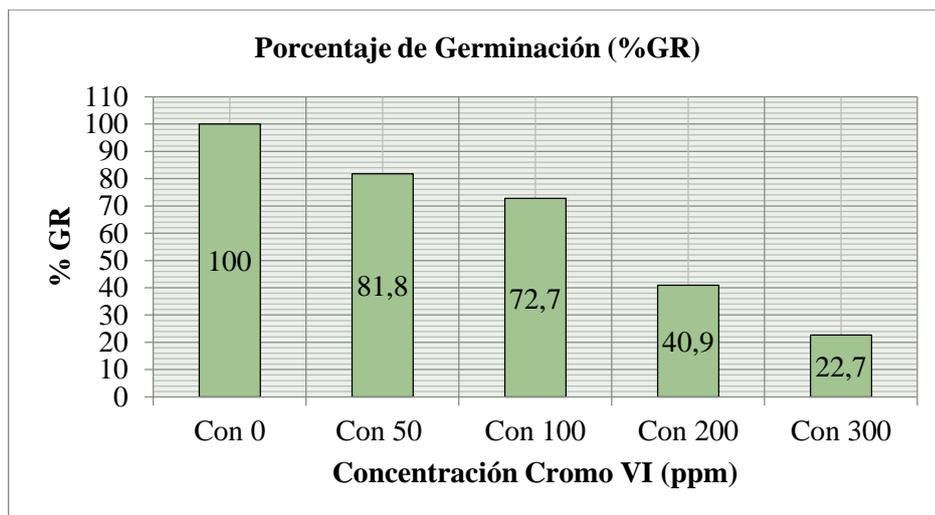
Se realizó el estadístico de Tukey para comparaciones múltiples con lo que se determinó diferencias significativas mediante la formación de distinto subconjuntos como se observó a continuación:

**Tabla 16-3.** Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.

Concentraciones del experimento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Con300	6	,83		
Con200	6	1,50	1,50	
Con100	6		2,67	2,67
Con50	6			3,00
Con0	6			3,67
Sig.		,578	,099	,200

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 16-3 se pudo observar la formación de tres subconjuntos homogéneos (columnas 3, 4 y 5) en los cuales existieron diferencias significativas, es decir que su potencial de germinación dependió de la dosis de tóxico presente.



**Gráfico 7-3.** Porcentaje semillas germinadas *Helianthus annuus*

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el Gráfico 7-3 se representó el porcentaje de semillas germinadas en las diferentes concentraciones de cromo VI, esta relación fue inversamente proporcional a diferencia de lo ocurrido con la especie *Zantedeschia aethiopica*.

### 3.2.2. Elongación Relativa de la Radícula (ER%)

En la Tabla 17-3, se mostraron los datos recolectados de la longitud de la radícula después de 7 días de ensayo para su análisis respectivo mediante la herramienta estadística ANOVA de un factor.

**Tabla 17-3.** Medidas de la Elongación radicular a los 7 días. Especie: *H. annuus*.

Repetición	Elongación Radicular (cm)				
	Con 0	Con 50	Con 100	Con 200	Con 300
<b>E1</b>	2,2	2	1,8	0,7	0,6
<b>E2</b>	2,3	1,8	1,3	0,8	0
<b>E3</b>	2,2	2,1	1,7	0,7	0,4
<b>E4</b>	2,4	2	1,5	1	0,5
<b>E5</b>	2,1	1,7	1,6	0,9	0
<b>E6</b>	2	1,6	1,3	0,8	0,4

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la primera fila se anotaron las concentraciones utilizadas en el ensayo comparadas con las repeticiones de la primera columna; los valores plasmados en la tabla 17-3 fueron el resultado de la medición de la raíz a los 16 días de ensayo.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y elongación de la radícula en la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y elongación de la radícula en la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 18-3.** Resultados de la prueba ANOVA para el tamaño de raíz. Especie *H. annuus*

ANOVA: Tamaño de la Raíz					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig. (p)
Entre grupos	14,251	4	3,563	98,602	0,000
Dentro de grupos	0,903	25	0,036		
Total	15,155	29			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

En la especie *Helianthus annuus* mediante el análisis ANOVA (Tabla 18-3) de la elongación radicular se obtuvo un valor de  $p=0$ , lo que determinó que existieron diferencias significativas entre las longitudes de las raíces a las distintas concentraciones de cromo VI utilizadas en el experimento, lo que afirmó que el crecimiento de la radícula dependió de la dosis del metal que se encuentre en el medio.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

**Tabla 19-3.** Resultado prueba Tukey del número de semillas germinadas especie: *H. annuus*

Concentraciones del experimento	Concentraciones del experimento	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	,3333*	,1097	,040	,011	,656
	Con100	,6667*	,1097	,000	,344	,989
	Con200	1,3833*	,1097	,000	1,061	1,706
	Con300	1,8833*	,1097	,000	1,561	2,206
Con50	Con0	-,3333*	,1097	,040	-,656	-,011
	Con100	,3333*	,1097	,040	,011	,656
	Con200	1,0500*	,1097	,000	,728	1,372
	Con300	1,5500*	,1097	,000	1,228	1,872
Con100	Con0	-,6667*	,1097	,000	-,989	-,344
	Con50	-,3333*	,1097	,040	-,656	-,011
	Con200	,7167*	,1097	,000	,394	1,039
	Con300	1,2167*	,1097	,000	,894	1,539
Con200	Con0	-1,3833*	,1097	,000	-1,706	-1,061
	Con50	-1,0500*	,1097	,000	-1,372	-,728
	Con100	-,7167*	,1097	,000	-1,039	-,394
	Con300	,5000*	,1097	,001	,178	,822
Con300	Con0	-1,8833*	,1097	,000	-2,206	-1,561
	Con50	-1,5500*	,1097	,000	-1,872	-1,228
	Con100	-1,2167*	,1097	,000	-1,539	-,894
	Con200	-,5000*	,1097	,001	-,822	-,178

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

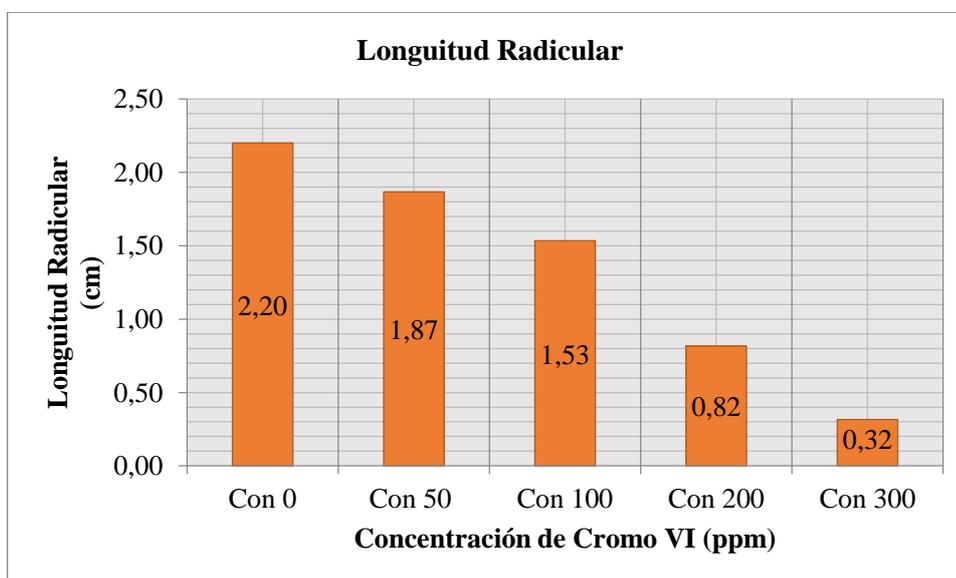
Para el análisis de los resultados obtenidos en la prueba de Tukey de comparaciones múltiples presentadas en la Tabla 19-3, se hizo uso de los datos en la columna 5, que mostró el nivel de significancia de la prueba, es así que en todos los casos de comparaciones de los tratamientos el p valor fue menor a 0,05 por lo que se dedujo que la variable elongación radicular de la especie *H. annuus* fue afectada por el tratamiento usado.

**Tabla 20-3.** Subconjuntos Homogéneos, especie: *Helianthus annuus*

Tamaño de la raíz						
Concentraciones del experimento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Con300	6	,3167				
Con200	6		,8167			
Con100	6			1,5333		
Con0	6				1,8667	
Con50	6					2,2000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

Como se pudo observar en la Tabla 20-3 se conformaron 5 subgrupos en los cuales existió un solo elemento por cada uno, así se dedujo que cada tratamiento difirió significativamente entre si y no existieron pares de comparaciones que hayan sido significativamente iguales, es por eso que cada uno de los tratamientos aplicados en la investigación afectaron directamente a la elongación radicular de *H. annuus*.



**Gráfico 8-3.** Longitud Radicular especie *Helianthus annuus*.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el grafico 8-3 se representó el porcentaje de elongación radicular por cada tratamiento aplicado, aquí se determinó un crecimiento normal de la raíz en la concentración de control (0 ppm), debido a que se usó agua destilada para su riego, y disminuyó en los siguientes

tratamientos, este comportamiento fue el esperado teniendo en cuenta el valor  $DL_{50}$  que se estimó anteriormente.

En la figura 6-3 se observó la radícula sin ningún cambio relevante, por lo que nos sirvió de control para los demás tratamientos.



**Figura 6-3.** *Helianthus annuus*: Semillas en concentración 0 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración de 50 ppm (Figura 7-3) se pudo observar un crecimiento lento de la radícula en sus primeros 8 días de germinación además se empezó a evidenciar cambios de color en forma de manchas en la raíz.



**Figura 7-3.** *Helianthus annuus*: Semillas en concentración 50 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

De acuerdo a Wallnöfer y Engelhardt (1984; citado en Barceló J & Poschenrieder Ch, 1992, p.352) el efecto tóxico se empezó a manifestar en la raíz de *H. annuus* en forma de cambios de color y manchas que se observaron en las concentraciones de 100 y 200 ppm (Figura 8-3 y Figura 9-3); a partir de estas concentraciones es visible la inhibición de longitud radicular con respecto al control.



**Figura 8-3.** *Helianthus annuus*: Semillas en concentración 100 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016



**Figura 9-3.** *Helianthus annuus*: Semillas en concentración 200 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la figura 10-3 se pudo observar que la germinación se dió en elevadas concentraciones de cromo VI, aunque la disminución de la elongación radicular fue notoria aún se logró registrar su medida en la mayoría de semillas; a partir de los 8 días de germinación en la especie *Helianthus annuus* se pudo evidenciar la muerte de algunas semillas, que a los 16 días se incrementó.



**Figura 10-3.** *Helianthus annuus*: Semillas en concentración 300 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

### 3.2.3. Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%)

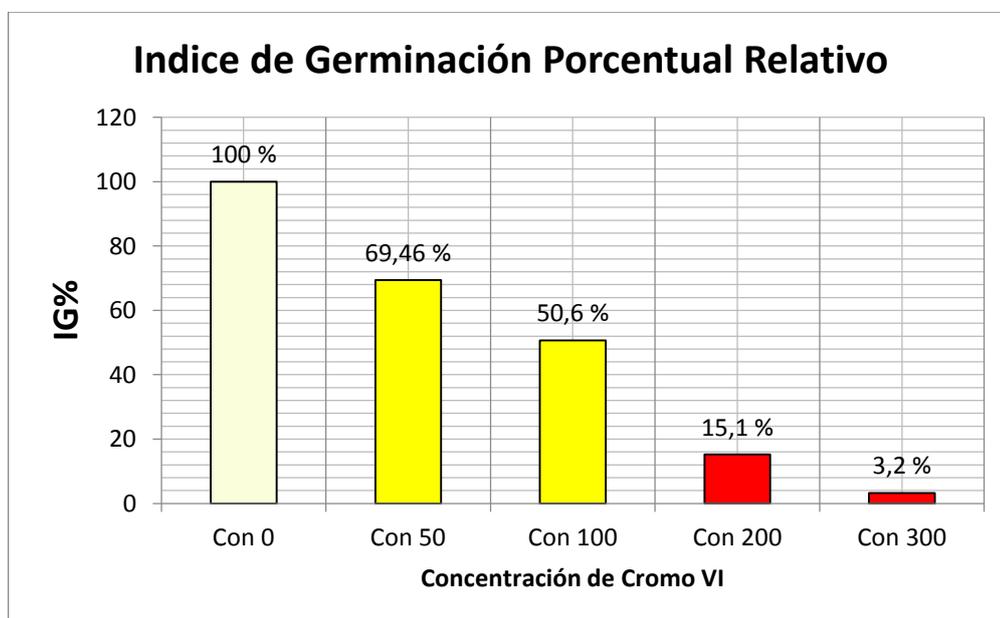
Hay que destacar la importancia del Índice de Germinación Porcentual Relativo (IG%) pues relacionó el efecto letal (%GR) con un efecto subletal (%ER); en la tabla 21-3 se presentaron los valores de obtenidos de IG% para las distintas concentraciones de cromo VI.

**Tabla 1-3.** Resultados etapa de Germinación de la especie *H. annuus*

CONCENTRACIÓN	%GR	ER%	IG%
Con 0	100,0	100,0	100,0
Con 50	81,8	84,8	69,4
Con 100	72,7	69,7	50,7
Con 200	40,9	37,1	15,2
Con 300	22,7	14,4	3,3

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

Se logró apreciar el IG% de la concentración 0 ppm (Gráfico 9-3) el cual no presentó fitotoxicidad ya que este experimento nos sirvió de control, en las demás concentraciones el IG% fue decreciendo, lo que denotó el efecto negativo del aumento de las concentraciones de cromo VI en la etapa de germinación.



**Gráfico 9-3.** Índice de Germinación especie: *Helianthus annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

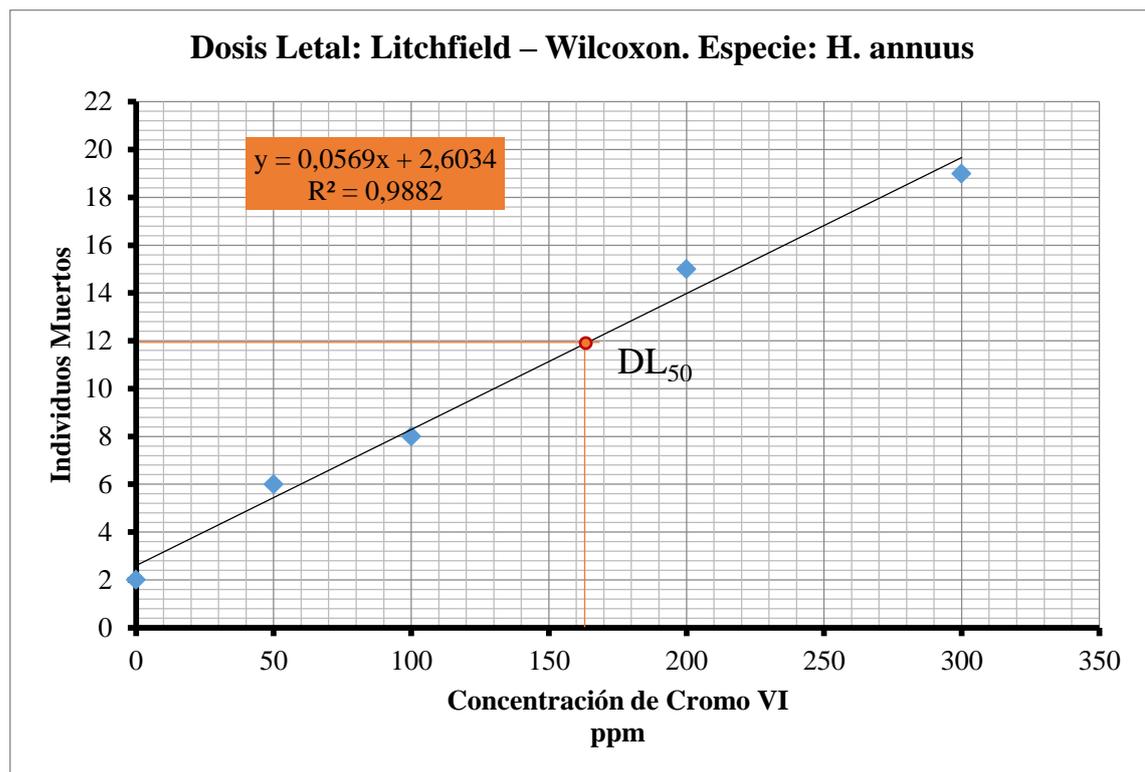
Mediante el criterio Emino y Warman se determinó que en las concentraciones de 50 y 100 ppm existió la presencia de metabolitos fitotóxicos moderados que no impidieron la germinación de la

especie *Helianthus annuus* pero si se evidenció una disminución en la elongación de la radícula; mientras que para las concentraciones de 200 y 300 ppm el IG % obtenido fue menor a 50%, que significó una presencia alta de metabolitos fitotóxicos de cromo VI los cuales impidieron el desarrollo de la especie vegetal.

### 3.2.4. Dosis Letal: *Helianthus annuus*

Para obtener la  $DL_{50}$  de la especie *H. annuus* se procedió de la misma manera que para la especie *Z. aethiopica* mediante dos métodos descritos a continuación:

#### 3.2.4.1. Método gráfico de Litchfield – Wilcoxon



**Gráfico 10-3.** Método Litchfield – Wilcoxon, Dosis-Respuesta especie: *Helianthus annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 10-3 se mostró una relación de tipo lineal entre los tratamientos y los individuos muertos en el ensayo de germinación, para este método gráfico se extrapola la media del número de individuos no germinados o muertos en el eje “y” con la dosis correspondiente a esta

media, el valor de la extrapolación fue de 12 individuos no germinados y se obtuvo un valor de 165,15 ppm de cromo VI el cual fue calculado mediante la ecuación de la recta:  $y = 0,0569x + 2,6034$ .

**Tabla 2-3.** Datos Dosis-Respuesta por el Método gráfico Litchfield – Wilcoxon

Parámetro	Valor	Observaciones
Pendiente:	0,056	
Intercepción:	2,60	
Valor prueba:	12	Representa el 50 % de los individuos usados en el experimento.
DL <sub>50</sub>	165,151	ppm de Cromo VI

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 21-3 se presentaron los valores obtenidos mediante el método gráfico de Litchfield – Wilcoxon, en donde el resultado de interés fue el DL<sub>50</sub> = 165,15 ppm de cromo VI, valor que indicó que a esta dosis de cromo VI el 50% de los individuos presentes de la especie *H. annuus* mueren, por lo que se pudo establecer una dosis umbral de 330,3 ppm de cromo VI en la cual teóricamente no existirán individuos vivos.

### 3.2.4.2. Método Probit

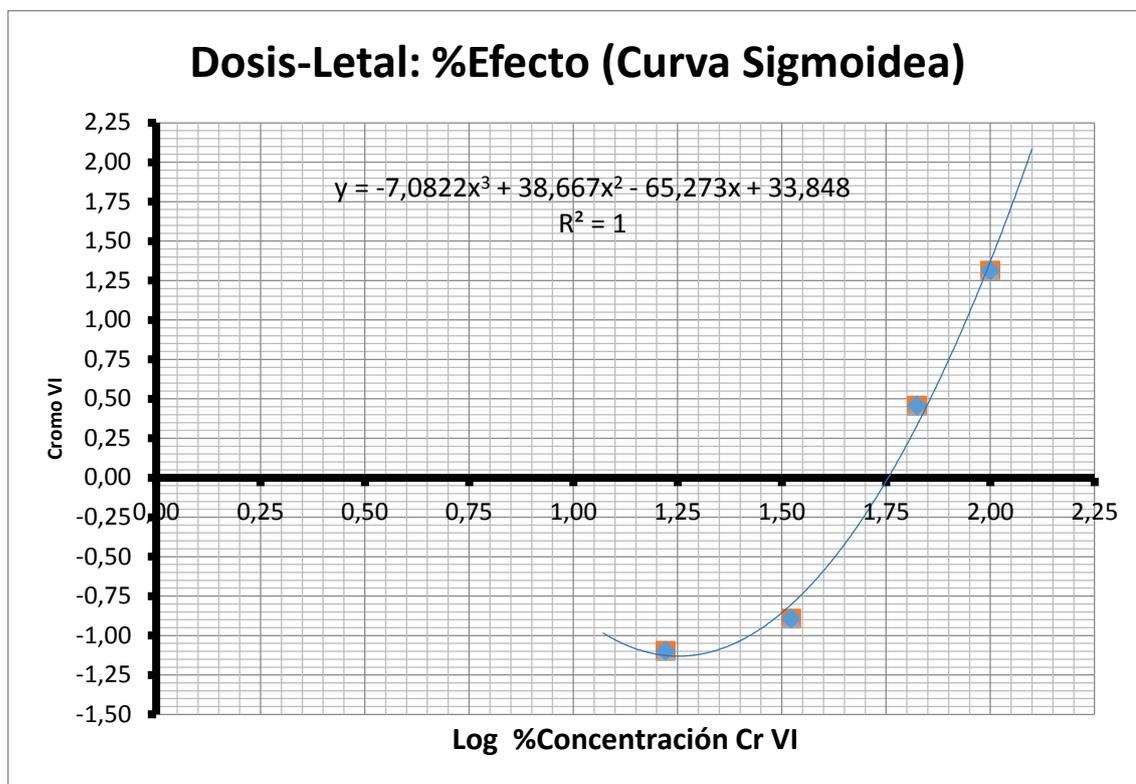
Se realizó el método probit para la determinación de la DL<sub>50</sub> en la germinación de la especie *H. annuus*, al realizar ambos métodos se buscó validar el valor resultante de la DL<sub>50</sub>

**Tabla 23-3.** Transformación escala Probit: Cálculo de DL<sub>50</sub> especie *H. annuus*

Concentración ppm	Concentración C%	Log C%	Individuos vivos	Individuos muertos	% Efecto (P)	Corrección Co. P	LogIn (Co. P)	Probit (p)
0	0,0	-	22	2	0,08	-	-	-
50	16,7	1,222	18	6	0,25	0,250	-1,099	4,326
100	33,3	1,523	16	8	0,33	0,273	-0,894	4,395
200	66,7	1,824	9	15	0,63	0,591	0,455	5,230
300	100,0	2,000	5	19	0,79	0,773	1,311	5,748

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 23-3 se observó en la octava columna el logaritmo natural del efecto en comparación con la tercera columna que fue el logaritmo de las concentraciones utilizadas en el ensayos, estos datos sirvieron para graficar la Dosis-Respuesta.



**Gráfico 11-3.** Dosis-Letal: Curva Sigmoidea especie: *Helianthus annuus*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

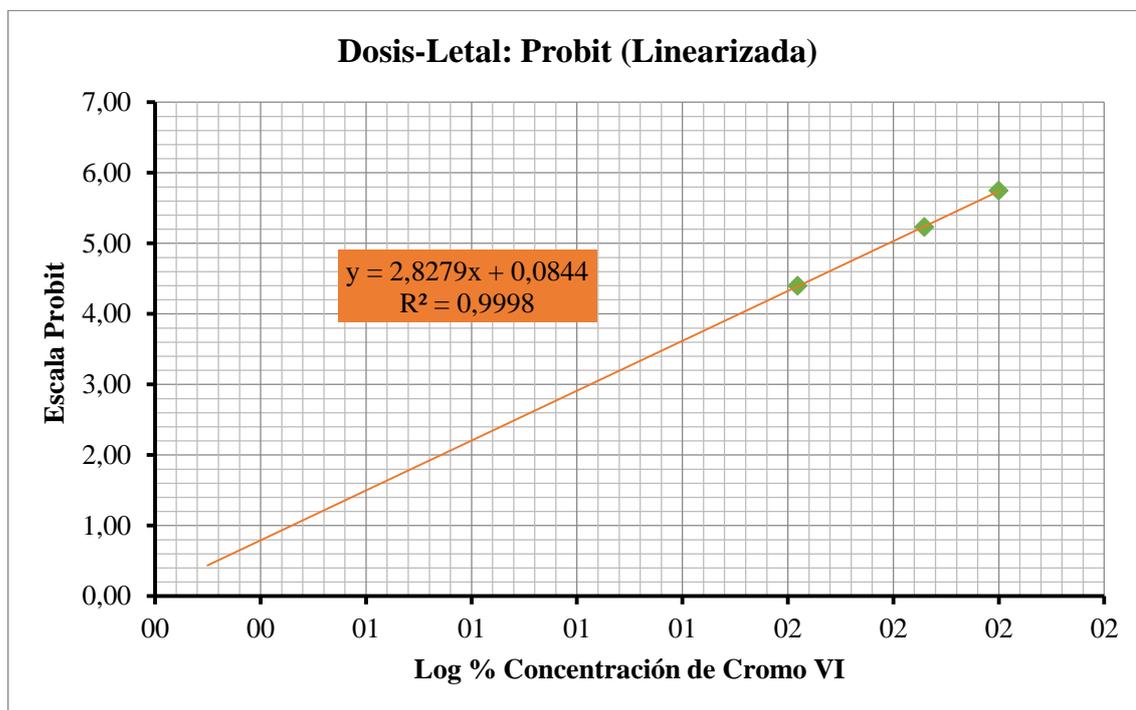
A partir de la ecuación cúbica obtenida  $y = -7,0822x^3 + 38,667x^2 - 65,273x + 33,848$  se calcularon sus parámetros.

**Tabla 24-3.** Parámetros de la Curva Sigmoidea Dosis-Respuesta especie *H. annuus*

Parámetro	Valor
Pendiente	4,605472385
Intercepción	-7,917592342
Valor prueba	0
Log(C%)	1,719170517
DL50 (% 100)	52,38060584
DI50 Calculada	157,1418175

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

El valor de la DL<sub>50</sub> de la especie *H. annuus* mediante el método de análisis Probit arrojó un valor de 157,14 ppm de cromo VI.



**Gráfico 12-3** Dosis-Letal: Probit (Linearizada) especie *Helianthus annuus*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 12-3 la función obtenida fue de tipo lineal, se representó en el eje de las ordenadas el efecto en escala probit y en el eje de las abscisas las concentraciones de Cromo VI utilizadas en la investigación, a partir del gráfico se determinó su DL<sub>50</sub>.

**Tabla 35-3.** Parámetros de la Curva Linearizada de Dosis-Respuesta

Parámetro	Valor
Pendiente	2,827856806
Intercepción	0,084402661
Valor prueba	5
Log(C%)	1,738276609
DL50 (% 100)	54,73644768
DL50 Calculada	164,209343

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 25-3 se presentaron los valores obtenidos a partir de la ecuación  $y = 2,8279x + 0,0844$ ; donde se utilizó un valor de prueba de 5 que representó el 50% del efecto en escala Probit, así se determinó el valor de  $DL_{50}$  el cual fue de 164 ppm Cromo VI para la especie *H. annuus*.

### 3.3. Fiabilidad de datos Etapa I

Según González (2015, pp.62) valores entre 0,7 a 0,9 representan una buena correlación de los ítems y sus datos son confiables en una investigación.

**Tabla 26-3.** Prueba de fiabilidad mediante Alfa de Cronbach.

Estadísticas de fiabilidad	
Alfa de Cronbach	N de elementos
,864	4

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 26-3 se presentó el valor de fiabilidad de los datos de las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus* en la Etapa I correspondiente a la germinación de las semillas, este valor fue de 0.864 obtenido mediante análisis Alfa de Cronbach, que indicó que existe una fuerte correlación entre los datos medidos de las variables anteriormente descritas.

**Tabla 27-3.** Prueba de fiabilidad supresión de variable.

	Media de escala si el elemento se ha suprimido	Varianza de escala si el elemento se ha suprimido	Correlación total de elementos corregida	Alfa de Cronbach si el elemento se ha suprimido
Germinación Girasol	4,5033	6,553	,794	,796
Elongación Girasol	5,4900	8,869	,912	,796
Germinación Cartucho	4,4700	5,035	,853	,813
Elongación Cartucho	6,0467	10,865	,825	,877

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la tabla 27-3 en la columna 5, se obtuvieron los porcentajes de la fiabilidad de los datos analizados si se suprimiera una variable considerada en esta etapa de la investigación, es así que al suprimir las variables germinación y elongación radicular de *H.annuus* y la germinación de *Z.*

*aethiopica* el porcentaje de fiabilidad disminuyó comparado con el valor obtenido de 0,864 en la tabla 26-3, por lo que no es factible suprimir las variables mencionadas, mientras que al considerar eliminar la variable elongación radicular de *Z. atehiopica* este porcentaje de fiabilidad aumentó en un 1.3%, valor relativamente bajo, por lo que se dedujo que al suprimir alguna de las variables mencionadas no se consiguió mejorar el porcentaje de fiabilidad

### 3.4. Etapa II Crecimiento: Especie *Zantedeschia aethiopica*

Durante esta etapa se monitoreo el crecimiento de la especie vegetal; en un tiempo aproximado de 6 meses en donde se determinó la presencia de efectos tóxicos visibles, mediante la medición del ancho foliar y la altura de la planta en donde se determinaron los cambios producidos.

#### 3.4.1. Ancho Foliar

En la Tabla 28-3 se pudo apreciar el ancho foliar de las repeticiones en cada concentración de cromo VI en la semana número 20 del ensayo de crecimiento en macetas y los datos fueron presentados a continuación.

**Tabla 28-3.** Valores del ancho de hoja. Especie *Z. aethiopica*.

CONCENTRACIÓN	EXPERIMENTO	ANCHO DE LA HOJA (cm)
Con 0	Exp 1	7,60
	Exp 2	7,20
	Exp 3	6,60
Con 50	Exp 1	5,60
	Exp 2	5,40
	Exp 3	6,70
Con 100	Exp 1	2,40
	Exp 2	1,80
	Exp 3	2,00
Con 200	Exp 1	1,20
	Exp 2	1,70
	Exp 3	,50
Con 300	Exp 1	,00
	Exp 2	,00
	Exp 3	,00

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En el ANEXO F se presenta la bitácora de medición del ancho de hoja de la especie *Zantedeschia aethiopica* en diferentes tiempos.

A los valores de ancho foliar de la especie *Z. aethiopica* se le aplicó el tratamiento estadístico ANOVA de un factor con el cual se determinó la existencia de diferencias significativas.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** Los tratamientos no afectaron el valor del ancho de la hoja de la especie *Zantedeschia aethiopica*, es decir el ancho de hoja no varió significativamente. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Los tratamientos afectaron el valor del ancho de la hoja de la especie *Zantedeschia aethiopica*, es decir el ancho de hoja varió significativamente. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 29-3.** Resultados de la prueba ANOVA del ancho de hojas especie *Z. aethiopica*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	115,637	4	28,909	120,456	,000
Dentro de grupos	2,400	10	,240		
Total	118,037	14			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

Mediante análisis ANOVA se obtuvo un p-valor (Sig) de 0,00 (Tabla 29-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa que se planteó en el análisis Anova, esta hipótesis estableció que existieron diferencias significativas entre los valores del ancho de las hojas, por lo que el tratamiento aplicado en la investigación si afectó de manera significativa a la altura de la especie *Z. aethiopica*.

Al existir diferencias significativas entre los valores de la altura de la planta de la especie *Z. aethiopica*, se procedió a aplicar el estadístico de Tukey para comparaciones múltiples.

**Tabla 30-3.** Resultado prueba Tukey del ancho de hoja especie: *Z. aethiopica*.

tratamiento	tratamiento	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	1,23333	,40000	,069	-,0831	2,5498
	100 ppm	5,06667*	,40000	,000	3,7502	6,3831
	200 ppm	6,00000*	,40000	,000	4,6836	7,3164
	300 ppm	7,13333*	,40000	,000	5,8169	8,4498
50 ppm	0 ppm	-1,23333	,40000	,069	-2,5498	,0831
	100 ppm	3,83333*	,40000	,000	2,5169	5,1498
	200 ppm	4,76667*	,40000	,000	3,4502	6,0831
	300 ppm	5,90000*	,40000	,000	4,5836	7,2164
100 ppm	0 ppm	-5,06667*	,40000	,000	-6,3831	-3,7502
	50 ppm	-3,83333*	,40000	,000	-5,1498	-2,5169
	200 ppm	,93333	,40000	,211	-,3831	2,2498
	300 ppm	2,06667*	,40000	,003	,7502	3,3831
200 ppm	0 ppm	-6,00000*	,40000	,000	-7,3164	-4,6836
	50 ppm	-4,76667*	,40000	,000	-6,0831	-3,4502
	100 ppm	-,93333	,40000	,211	-2,2498	,3831
	300 ppm	1,13333	,40000	,101	-,1831	2,4498
300 ppm	0 ppm	-7,13333*	,40000	,000	-8,4498	-5,8169
	50 ppm	-5,90000*	,40000	,000	-7,2164	-4,5836
	100 ppm	-2,06667*	,40000	,003	-3,3831	-,7502
	200 ppm	-1,13333	,40000	,101	-2,4498	,1831

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

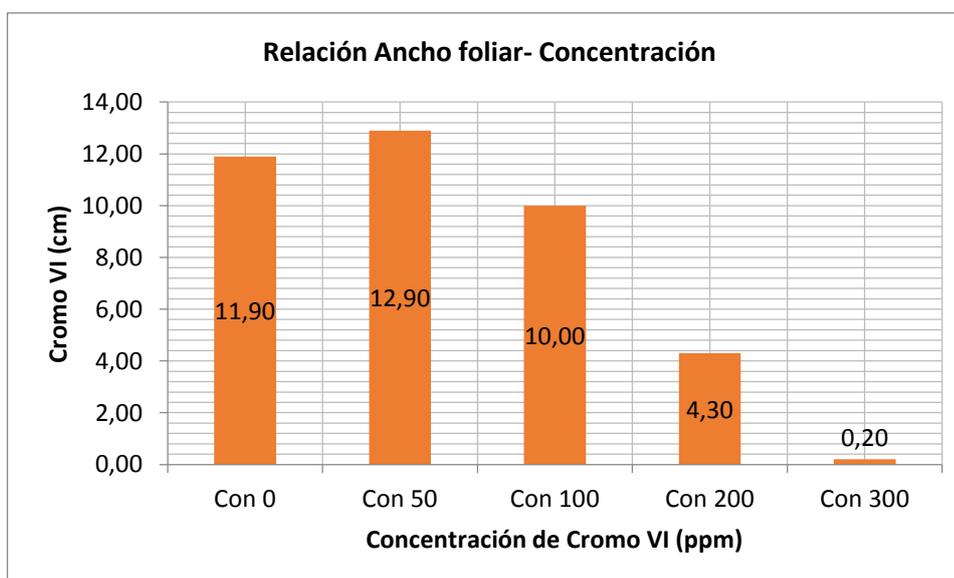
El valor p correspondiente a la quinta columna de la tabla 30-3 nos indicó que las comparaciones entre los tratamientos Con 0-Con50, Con100- Con200, Con200-Con300 obtuvieron un p-valor mayor a 0.05 por lo que no existieron diferencias significativas entre estos pares de tratamientos, que significó que entre dichos tratamientos no existió una variación en el ancho de la hoja, mientras que en el resto de comparaciones el tratamiento si incidió significativamente en el resultado del ancho foliar de la especie *Z. aethiopica*.

**Tabla 31-3.** Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
300 ppm	3	,0000		
200 ppm	3	1,1333	1,1333	
100 ppm	3		2,0667	
50 ppm	3			5,9000
0 ppm	3			7,1333
Sig.		,101	,211	,069

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 31-3 se ratificó lo anterior, en los subconjuntos formados en el estadístico de Tukey, se encontraron en un mismo conjunto, el tratamiento Con300 y Con200 por su igualdad de medias, en otro subconjunto diferente al primero se encontraron agrupados los tratamientos Con200 y Con100, mientras que en un tercer subconjunto se hallaron los tratamientos Con50 y Con0, así entre estos pares de tratamientos el valor del ancho foliar no se vió afectado por la dosis de cromo VI.



**Gráfico 13-3.** Relación entre los tratamientos y el ancho foliar de *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 13-3 se observó como el ancho foliar decrece a medida que aumentó la concentración del tratamiento, excepto en el tratamiento Con50 en donde la medida fue mayor que en el control, por lo que se evidenció el efecto de hórmesis.

### 3.4.2. *Altura de la planta*

A continuación se presentaron los valores medidos de la altura de la planta en el cartucho al final de la semana 20 de ensayo.

**Tabla 32-3.** Medidas de la altura en plantas. Especie *Z. aethiopica*.

CONCENTRACIÓN	EXPERIMENTO	ALTURA (cm)
Con 0	Exp 1	55,00
	Exp 2	53,70
	Exp 3	52,60
Con 50	Exp 1	47,70
	Exp 2	48,40
	Exp 3	46,00
Con 100	Exp 1	31,40
	Exp 2	30,40
	Exp 3	29,00
Con 200	Exp 1	10,00
	Exp 2	14,70
	Exp 3	11,90
Con 300	Exp 1	0,00
	Exp 2	0,00
	Exp 3	0,00

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

La tabla 32-3 representó en su columna uno los tratamientos aplicados a la especie en cuestión, la columna dos es el número de experimento o repetición por cada tratamiento y finalmente la última columna contiene los valores de las mediciones de las alturas de las especies de *Z. aethiopica* tomadas por los autores; con estos datos se procedió a realizar un análisis ANOVA y comparaciones múltiples de Tukey con el fin de establecer si existió o no una incidencia de los tratamientos en la altura de la planta.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** Los tratamientos no afectaron el valor de la altura de la planta de la especie *Zantedeschia aethiopica*, es decir los valores de la altura de la planta no variaron significativamente entre sí. Donde si el p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Los tratamientos afectaron el valor de la altura de la planta de la especie *Zantedeschia aethiopica*, es decir los valores de la altura de la planta variaron significativamente entre sí. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa

**Tabla 33-3.** Resultados de la prueba ANOVA de la altura especie: *Z. aethiopica*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6225,524	4	1556,381	777,413	,000
Dentro de grupos	20,020	10	2,002		
Total	6245,544	14			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

Mediante análisis ANOVA se obtuvo un p-valor (Sig) de 0,00 (Tabla 33-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa que estableció la existencia de una diferencia significativa entre las alturas de la planta, por lo que los tratamientos aplicados en esta investigación afectaron de manera significativa a la variable altura de plantas en la especie *Z. aethiopica*.

Como existe una diferencia significativa entre los valores de la altura de las plantas de *Z. aethiopica*, se procedió a aplicar el estadístico de Tukey para comparaciones múltiples con el fin de determinar entre cuales tratamientos existió la variación significativa.

**Tabla 34-3.** Resultado prueba Tukey de la Altura especie: *Z. aethiopica*

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	6,40000*	1,15528	,002	2,5979	10,2021
	100 ppm	23,50000*	1,15528	,000	19,6979	27,3021
	200 ppm	41,56667*	1,15528	,000	37,7646	45,3688
	300 ppm	53,76667*	1,15528	,000	49,9646	57,5688
50 ppm	0 ppm	-6,40000*	1,15528	,002	-10,2021	-2,5979
	100 ppm	17,10000*	1,15528	,000	13,2979	20,9021
	200 ppm	35,16667*	1,15528	,000	31,3646	38,9688
	300 ppm	47,36667*	1,15528	,000	43,5646	51,1688
100 ppm	0 ppm	-23,50000*	1,15528	,000	-27,3021	-19,6979
	Continuación					

	50 ppm	-17,10000*	1,15528	,000	-20,9021	-13,2979
	200 ppm	18,06667*	1,15528	,000	14,2646	21,8688
	300 ppm	30,26667*	1,15528	,000	26,4646	34,0688
200 ppm	0 ppm	-41,56667*	1,15528	,000	-45,3688	-37,7646
	50 ppm	-35,16667*	1,15528	,000	-38,9688	-31,3646
	100 ppm	-18,06667*	1,15528	,000	-21,8688	-14,2646
	300 ppm	12,20000*	1,15528	,000	8,3979	16,0021
300 ppm	0 ppm	-53,76667*	1,15528	,000	-57,5688	-49,9646
	50 ppm	-47,36667*	1,15528	,000	-51,1688	-43,5646
	100 ppm	-30,26667*	1,15528	,000	-34,0688	-26,4646
	200 ppm	-12,20000*	1,15528	,000	-16,0021	-8,3979

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

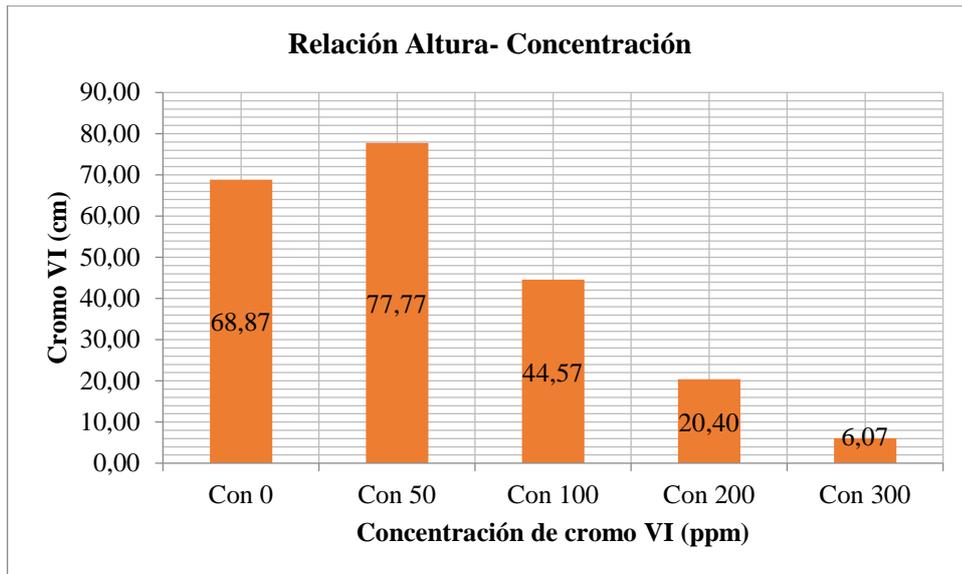
El valor p (Sig) que correspondió a la quinta columna de la tabla 34-3 en todos los pares de comparaciones fue menor que 0.05 lo que indicó que en todas las comparaciones existió una diferencia significativa por lo que el tratamiento incidió significativamente en el resultado de la altura de la planta en la especie *Z. aethiopica*, esta afirmación se ratificó en la tabla siguiente de subconjuntos homogéneos.

**Tabla 35-3.** Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
300 ppm	3	,0000				
200 ppm	3		12,2000			
100 ppm	3			30,2667		
50 ppm	3				47,3667	
0 ppm	3					53,7667
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la tabla 35-3 se pudo observar que no existió más de un elemento en los subconjuntos homogéneos resultantes, por lo que en todos los casos las medias de las alturas de la planta fueron distintas entre sí, por lo que se dedujo que todos los tratamientos aplicados en la presente investigación incidieron significativamente en el valor de la altura de la planta de la especie *Z. aethiopica*.



**Gráfico 14-3.** Relación Tratamientos-Altura de la planta en la especie *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 14-3 se observó como al altura de la planta decreció a medida que aumentó la concentración del tratamiento, excepto en el tratamiento Con50 en donde la medida fue mayor que en el control, por lo que se concluyó la presencia del efecto de hórmesis a concentraciones de 50 ppm en la especie *Z. aethiopica*

### 3.4.3. Necrosis y anomalías. Especie *Zantedeschia aethiopica*

Se realizaron anotaciones en la bitácora correspondiente a la especie *Z. aethiopica* durante el ensayo de crecimiento en macetas de cualquier presencia de anomalías y necrosis.



**Figura 11-3.** Necrosis en *Zantedeschia aethiopica*: concentración 0 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En las concentraciones de 0 y 50 ppm (Figura 11-3 y Figura 12-3) las plantas crecieron normalmente, su desarrollo no mostró ninguna alteración por lo que no se presentaron evidencias de necrosis ni anomalías pues en el tratamiento Con0 era el resultado esperado por que fue el control del ensayo, mientras que en Con50 existió un desarrollo favorable comparado con Con0, debido a que se determinó que en ciertos ensayos la exposición a sustancias tóxicas en menores concentraciones favoreció el crecimiento y lo impulsó o también denominado hórmesis. (Calabrese y Baldwin, 2003 citado en: Do Carmo L, 2013).



**Figura 12-3.** Necrosis en *Zantedeschia aethiopica*: concentración 50 ppm  
Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el tratamiento Con100 (Figura 13-3), se dieron los primeros síntomas observables de intoxicación por metales pesados, según referencias bibliográficas la especie en cuestión presentó síntomas visibles de intoxicación al cromo VI a una concentración promedio de 80 mg  $\text{Cr}^{6+}/\text{L}$  pero esto en un humedal subsuperficial (Suárez A & Agudelo R, 2014) mientras que en la presente investigación se dió a 100 ppm, por lo que en las condiciones propuestas en la presente la *Z. aethiopica* tolera un 20 % más de la concentración que reporta Suárez en su estudio.



**Figura 13-3.** Necrosis en *Z. aethiopica*: concentración 100 ppm  
Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Figura 14-3 se observó que las hojas cercanas a la raíz de *Z. aethiopica* tomaron un color amarillo iniciándose en el ápice de la hoja y extendiéndose a su base con el tallo el cual no presentó síntomas de necrosis; en cuanto a anomalías la planta sufrió sus primeros decrecimientos de tamaño en general.



**Figura 14-3.** Necrosis en *Zantedeschia aethiopica*: concentración 100 ppm

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración de 200 ppm, la necrosis empezó a agravarse pues las hojas y en general toda la planta tuvo un menor tamaño comparado con el control, las hojas presentaron necrosis en su totalidad (figura 15-3) observándose una coloración café oscuro, cabe destacar que la especie en este tratamiento desarrolló una media de 3 hojas, de las cuales 2 se encontraron en estado de necrosis.

Así mismo manchas circulares amarillentas hicieron presencia en el tallo, por lo que la toxicidad de cromo VI empezó a difundirse por los demás órganos visibles de la especie causando una disminución de la actividad fotoquímica derivando en una menor síntesis de clorofila por lo que el tamaño de la planta fue menor y no existió un desarrollo correcto de sus órganos. (Ciscato, et al., 1997; citado en: González B, et al., 2006).



**Figura 15-3.** Necrosis en *Zantedeschia aethiopica*: concentración 200 ppm

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

Finalmente en la concentración de 300 ppm, como se pudo observar en la figura 16-3 que la especie no se desarrolló en su totalidad, solo alcanzó escasos centímetros de altura antes de su muerte prematura, aquí es donde se apreció necrosis tanto en hojas como en tallo, por lo que se dedujo que a esta dosis del tratamiento, las células vegetales de hojas, tallo y raíz murieron con rapidez inhibiendo la funcionalidad normal de la especie e impidiendo la correcta absorción de nutrientes (Dan'azum y Bichi, 2010; citado en: Do Carmo L, 2013); la necrosis en este tratamiento se presentó con una coloración café pardo en la totalidad de la planta.



**Figura 16-3.** Necrosis en *Zantedeschia aethiopica*: concentración 300 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

### 3.5. Etapa II Crecimiento: Especie *Helianthus annuus*.

#### 3.5.1. *Ancho Foliar*

En la Tabla 36-3 se presentó el ancho foliar en la última medición aproximadamente a los 4 meses de su siembra.

**Tabla 36-3.** Valores del ancho de hoja. Especie *H. annuus*.

CONCENTRACIÓN	EXPERIMENTO	ANCHO DE LA HOJA (cm)
Con 0	Exp 1	11,8
	Exp 2	12,1
	Exp 3	11,8
Con 50	Exp 1	12,9
	Exp 2	12,7
		Continuación

	Exp 3	13,1
Con 100	Exp 1	9,1
	Exp 2	10,8
	Exp 3	10,1
Con 200	Exp 1	5,8
	Exp 2	3,8
	Exp 3	3,3
Con 300	Exp 1	0
	Exp 2	0,6
	Exp 3	0

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla anterior en la columna tres se detallaron los valores promedio del ancho de las hojas basados en el ANEXO G, estos datos fueron analizados mediante Anova de un factor para determinar si existió o no diferencias significativas.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** Los tratamientos no afectaron el valor del ancho de la hoja de la especie *Helianthus annuus*, es decir el ancho de hoja no varió significativamente. Si p valor es mayor o igual a 0.05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Los tratamientos afectaron el valor del ancho de la hoja de la especie *Helianthus annuus*, es decir el ancho de hoja varió significativamente entre si. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 37-3.** Resultados de la prueba ANOVA para el ancho de hojas. Especie *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	352,956	4	88,239	165,242	,000
Dentro de grupos	5,340	10	,534		
Total	358,296	14			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

El p-valor (Sig) obtenido es de 0,00 (Tabla 37-3), que por ser menor que 0.05 se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa en la que se estableció la existencia de una

diferencia significativa entre el ancho de las hojas determinados en los tratamientos, por lo que el tratamiento aplicado en esta investigación si afectó de manera significativa a la medida del ancho de las hojas en la especie *H. annuus*.

Debido a que existió una diferencia significativa entre los valores del ancho de hoja de *H. annuus*, se procedió a aplicar el estadístico de Tukey para comparaciones múltiples.

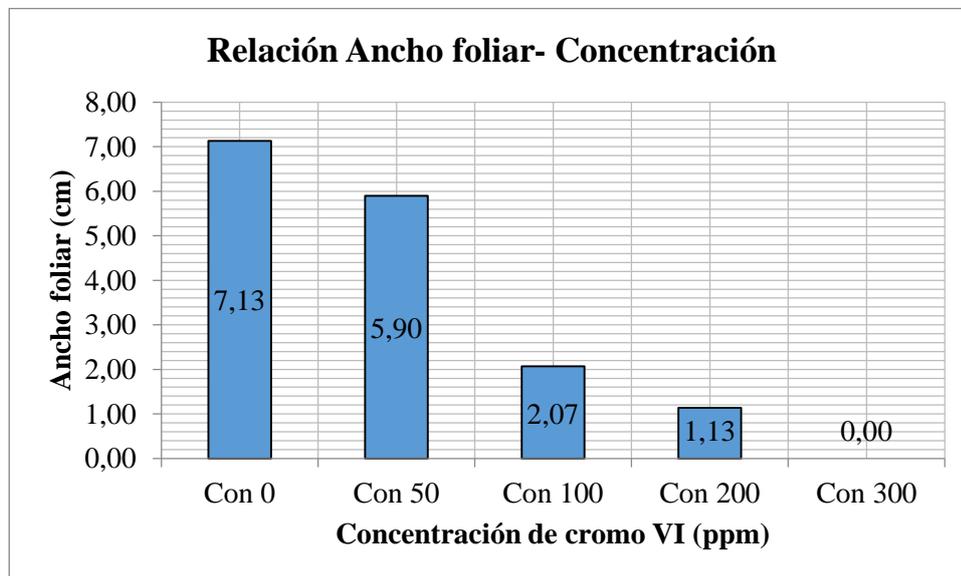
**Tabla 38-3.** Resultado prueba Tukey del Ancho de hoja especie: *H. annuus*

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-1,00000	,59666	,488	-2,9636	,9636
	100 ppm	1,90000	,59666	,059	-,0636	3,8636
	200 ppm	7,60000 <sup>*</sup>	,59666	,000	5,6364	9,5636
	300 ppm	11,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	9,7364	13,6636
50 ppm	0 ppm	1,00000	,59666	,488	-,9636	2,9636
	100 ppm	2,90000 <sup>*</sup>	,59666	,005	,9364	4,8636
	200 ppm	8,60000 <sup>*</sup>	,59666	,000	6,6364	10,5636
	300 ppm	12,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	10,7364	14,6636
100 ppm	0 ppm	-1,90000	,59666	,059	-3,8636	,0636
	50 ppm	-2,90000 <sup>*</sup>	,59666	,005	-4,8636	-,9364
	200 ppm	5,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	3,7364	7,6636
	300 ppm	9,80000 <sup>*</sup>	,59666	,000	7,8364	11,7636
200 ppm	0 ppm	-7,60000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-9,5636	-5,6364
	50 ppm	-8,60000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-10,5636	-6,6364
	100 ppm	-5,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-7,6636	-3,7364
	300 ppm	4,10000 <sup>*</sup>	,59666	,000	2,1364	6,0636
300 ppm	0 ppm	-11,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-13,6636	-9,7364
	50 ppm	-12,70000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-14,6636	-10,7364
	100 ppm	-9,80000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-11,7636	-7,8364
	200 ppm	-4,10000 <sup>*</sup>	,59666	,000	-6,0636	-2,1364

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

El valor p correspondiente a la quinta columna nos indicó que en las comparaciones de los tratamientos Con0-Con50 y Con0-Con100 no existieron diferencias significativas entre estos pares de tratamientos por lo que se asumió que en dichos comparaciones el tratamiento no

influyó en el ancho de la hoja, mientras que en el resto de comparaciones no anotadas existió una diferencia significativa por lo que el tratamiento si incide significativamente en el resultado del ancho foliar de la especie *H. annuus*.



**Gráfico 15-3.** Relación entre tratamientos y el ancho foliar de *Helianthus annuus*

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la gráfica 15-3 se determinó la relación del ancho foliar con las concentraciones de cromo VI, donde se evidenció una tendencia de decrecimiento a mayor dosis del tóxico.

### 3.5.2. Altura de la planta

**Tabla 39-3.** Medidas de la altura en plantas. Especie *H. annuus*.

CONCENTRACIÓN	EXPERIMENTO	ALTURA (cm)
Con 0	Exp 1	73,1
	Exp 2	64
	Exp 3	69,5
Con 50	Exp 1	75
	Exp 2	78,4
	Exp 3	79,9
Con 100	Exp 1	41
	Continuación	

	Exp 2	43,4
	Exp 3	49,3
Con 200	Exp 1	19,6
	Exp 2	21,6
	Exp 3	20
Con 300	Exp 1	8,9
	Exp 2	9,3
	Exp 3	0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la tabla 39-3 se encuentran plasmados en su columna uno los tratamientos aplicados a la especie en cuestión, la columna dos es el número de experimento o repetición por cada tratamiento y finalmente la última columna contiene los valores de las mediciones de las alturas de las especies de *H. annuus* tomadas por los autores de la presente investigación.

Al igual que la especie *Z. aethiopica* con estos datos se procedió a realizar un análisis ANOVA y comparaciones múltiples de Tukey con el fin de establecer si existió o no una incidencia de los tratamientos en la altura de la planta.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** Los tratamientos no afectaron el valor de la altura de la planta de la especie *Helianthus annuus*, es decir los valores de la altura de la planta no variaron significativamente entre sí. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Los tratamientos afectaron el valor de la altura de la planta de la especie *Helianthus annuus*, es decir los valores de la altura de la planta variaron significativamente entre sí. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 40-3.** Resultados de la prueba ANOVA para la altura de las plantas especie *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11261,007	4	2815,252	189,418	,000
Dentro de grupos	148,627	10	14,863		
Total	11409,633	14			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

Mediante análisis ANOVA se obtuvo un p-valor (Sig) de 0,00 (Tabla 40-3), por lo que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa que establece que existió una diferencia significativa entre las alturas de la planta, por lo que los tratamientos aplicados en esta investigación afectaron de manera significativa a la variable altura de plantas en la especie *Z. aethiopica*.

Como existió una diferencia significativa entre los valores de la altura de las plantas de *Z. aethiopica*, se procedió a aplicar el estadístico de Tukey para comparaciones múltiples.

**Tabla 41-3.** Resultado prueba Tukey para la Altura de las plantas especie: *H. annuus*

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-8,90000	3,14777	,102	-19,2596	1,4596
	100 ppm	24,30000*	3,14777	,000	13,9404	34,6596
	200 ppm	48,46667*	3,14777	,000	38,1071	58,8262
	Continuación					
	300 ppm	62,80000*	3,14777	,000	52,4404	73,1596
50 ppm	0 ppm	8,90000	3,14777	,102	-1,4596	19,2596
	100 ppm	33,20000*	3,14777	,000	22,8404	43,5596
	200 ppm	57,36667*	3,14777	,000	47,0071	67,7262
	300 ppm	71,70000*	3,14777	,000	61,3404	82,0596
100 ppm	0 ppm	-24,30000*	3,14777	,000	-34,6596	-13,9404
	50 ppm	-33,20000*	3,14777	,000	-43,5596	-22,8404
	200 ppm	24,16667*	3,14777	,000	13,8071	34,5262
	300 ppm	38,50000*	3,14777	,000	28,1404	48,8596
200 ppm	0 ppm	-48,46667*	3,14777	,000	-58,8262	-38,1071
	50 ppm	-57,36667*	3,14777	,000	-67,7262	-47,0071
	100 ppm	-24,16667*	3,14777	,000	-34,5262	-13,8071
	300 ppm	14,33333*	3,14777	,007	3,9738	24,6929
300 ppm	0 ppm	-62,80000*	3,14777	,000	-73,1596	-52,4404
	50 ppm	-71,70000*	3,14777	,000	-82,0596	-61,3404
	100 ppm	-38,50000*	3,14777	,000	-48,8596	-28,1404
	200 ppm	-14,33333*	3,14777	,007	-24,6929	-3,9738

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

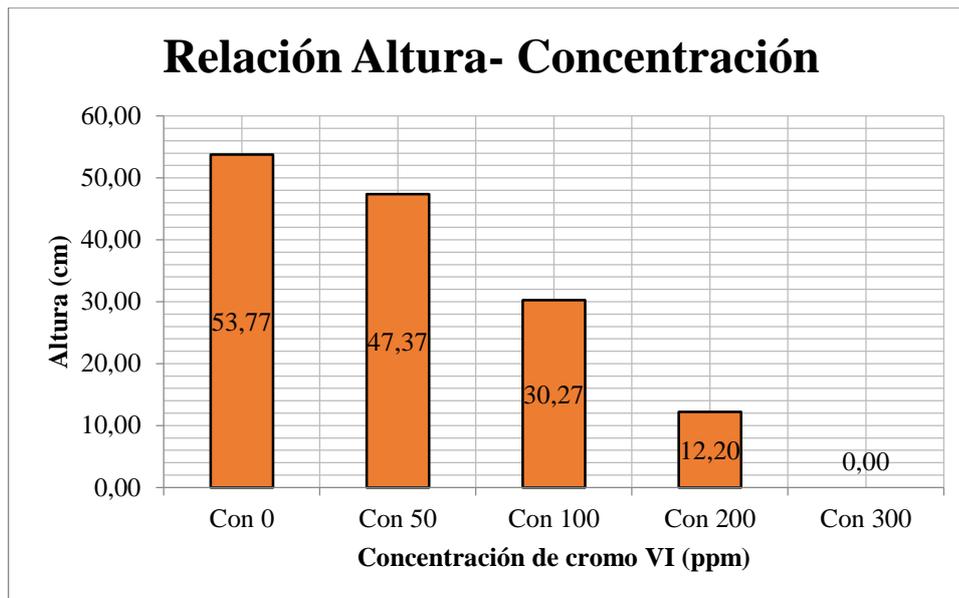
El valor p (Sig) correspondiente a la quinta columna de la tabla 41-3 en todos los pares de comparaciones fue menor que 0.05 excepto en la comparación de los tratamientos Con0-Con50, en este caso el p-valor de 0,102 nos indicó que en estos tratamientos no existió una diferencia significativa por lo que el tratamiento no incidió significativamente en el resultado de la altura de la planta en la especie *Z. aethiopica*, en las demás comparaciones como el p-valor es menor que 0.05 entonces se concluyó que el tratamiento incidió significativamente en la altura de la planta de *H. annuus*.

**Tabla 42-3.** Subconjuntos Homogéneos de concentraciones de Cromo VI.

tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
300 ppm	3	6,0667			
200 ppm	3		20,4000		
100 ppm	3			44,5667	
0 ppm	3				68,8667
50 ppm	3				77,7667
Sig.		1,000	1,000	1,000	,102

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la tabla 42-3 se ratificó lo descrito en el anterior párrafo, pues aquí se obtuvo 4 subconjuntos que indicaron diferencias significativas entre todos los tratamientos representados, ya que solo contienen un elemento en su interior excepto el subconjunto 4 en donde los tratamientos Con0 y Con50 fueron sus elementos, con lo que se interpretó que no hay diferencia significativa las medias de las alturas de la planta por lo que los tratamientos Con0 y Con50 no influyeron en los valores de la altura de la planta.



**Gráfico 16-3.** Relación entre los tratamientos y la altura de *H. annuus*

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

### 3.5.3. Necrosis y anomalías especie *Helianthus annuus*

Las anomalías y presencia de necrosis que se observaron en los tratamientos utilizados en el presente ensayo para la especie *H. annuus* se anotaron en su bitácora respectiva, y se presentó un resumen de estas anotaciones a continuación:



**Figura 17-3.** Necrosis especie *H. annuus*: concentración 0 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración 0 ppm, no se presentaron anomalías de ningún tipo ni necrosis en ningún órgano de la planta, es lo esperado pues este tratamiento fue el control (Figura 17-3).

En la concentración de 50 ppm de cromo VI se evidenciaron los primeros síntomas de necrosis en las hojas inferiores de la planta, como se observó en la Figura 18-3, se da un color amarillo verdoso que se acentuó más en el ápice de la hoja, la evidencia de necrosis en este tratamiento no sobrepasó las dos hojas en promedio por cada repetición; no se observaron anomalías marcadas en los órganos de la especie en este tratamiento.



**Figura 18-3.** Necrosis especie *H. annuus*: concentración 50 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración de 100 ppm, la necrosis en hojas se marcó por la coloración café obscura que adquirieron los ápices de la hojas y se extendieron a la base de la misma, las hojas en este punto empezaron a resquebrajarse; como anomalías visibles se tuvo la reducción del tamaño tanto de hojas como del tallo, se destacó que en este tratamiento la necrosis es a nivel de hojas, pues en el tallo no es observable este efecto tóxico (Figura 19-3).



**Figura 19-3.** Necrosis especie *H. annuus*: concentración 100 ppm

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la concentración de 200 ppm (Figura 20-3), el crecimiento de la especie se ve altamente reducida como efecto tóxico del metal pesado en estudio, las hojas casi no obtuvieron desarrollo y en el 50 % de la totalidad de hojas nacidas se observa la presencia de necrosis, por lo que la síntesis de clorofila se ve altamente reducida causando problemas en el desarrollo de la planta. (Ciscato, et al., 1997; citado en: González B. et al., 2006)



**Figura 20-3.** Necrosis especie *Helianthus annuus*: concentración 200 ppm  
Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Figura 21-3, correspondiente a 300 ppm de cromo VI, como anomalías en el crecimiento se observaron que las plantas en cada repetición apenas crecieron unos pocos centímetros como consecuencia de la toxicidad del metal pesado, las células vegetales de las hojas iniciaron su muerte producto de tal toxicidad, antes del período de maduración que se estima en 87 días (Aguilar J., 2001).

En este tratamiento la totalidad de las hojas presentaron un color café oscuro y en el tallo hubo claras muestras de necrosis, estas se evidenciaron con manchas en forma de óvalos irregulares con el centro de color negro y el borde café oscuro.



**Figura 21-3.** Necrosis especie *H. annuus*: concentración 300 ppm  
Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

### 3.6. Fiabilidad de datos Etapa II

Se anotó en el punto 3.3 que los valores entre 0.7 a 0.9 representan una buena correlación de los ítems y sus datos son confiables en una investigación.

A continuación se muestra el resultado del análisis de fiabilidad de datos mediante la prueba estadística del Alfa de Cronbach realizado en el software SPSS.

**Tabla 43-3.** Prueba de fiabilidad mediante Alfa de Cronbach.

Estadísticas de fiabilidad	
Alfa de Cronbach	N de elementos
0,793	4

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la Tabla 43-3 se observó el valor de fiabilidad de los datos de las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus* en la Etapa II que constó de las variables ancho de hoja y altura de la planta, este valor de fiabilidad fue de 0,79 que es un valor arriba del rango aceptable de correlación de datos.

### 3.7. Etapa III Análisis de la Información: Especie *Zantedeschia aethiopica*

La duración del ensayo en las macetas varió entre las dos especies, siendo menor en *Helianthus annuus* (6 meses), considerando que su tiempo de maduración es más corto que la especie *Zantedeschia aethiopica* (8 meses); es así que el tiempo de riego en la etapa de crecimiento en macetas de esta última fue de 240 días, considerando que el tiempo de floración de la especie es de 8 a 11 meses. (UNAD, s.f).

#### 3.7.1. Bioacumulación por Órganos

En cuanto a la bioacumulación de cromo VI en los diferentes órganos de la especie *Zantedeschia aethiopica*, se presentaron los siguientes resultados obtenidos mediante un análisis por espectrofotometría de absorción atómica de las muestras líquidas de extracto vegetal de cada órgano considerado para este estudio (Tabla 44-3).

**Tabla 44-3.** Niveles de cromo VI presentes en la especie *Z. aethiopica*

<b>Girasol</b>	<b>Órgano Vegetal</b>	<b>Raíz</b>	<b>Tallo</b>	<b>Hojas</b>	<b>Flor</b>	<b>Suelo</b>
<b>Concentraciones de Cromo 6+</b>	Con 0	0,25	0,68	0,3	0,02	0,16
	Con 50	10,3	11,1	26,4	15,8	1,25
	Con 100	10,5	10,4	29,3	12,6	1,39
	Con 200	15,3	15,3	30,1	0	1,95
	Con 300	0	0	0	0	2,16

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la primera fila se pudo observar los órganos de las plantas en las cuales se ha monitoreado el nivel de Cromo VI comparados con las concentración en la segunda fila; para los niveles de 50 y 100 ppm se obtuvieron resultados en todos los casos, mientras que en concentraciones de 200 ppm no se logró floración por lo mismo no se contó con datos, mientras en el tratamiento Con 300 no existieron datos para ningún órgano debido a la muerte prematura de la especie.

Para detallar su bioacumulación en la planta se procedió a realizar una nueva Tabla (45-3) en la cual se presentaron los valores de bioacumulación en la totalidad de la planta en cada tratamiento.

**Tabla 45-3.** Valores de bioacumulación especie: *Zantendeschia aethiopica*.

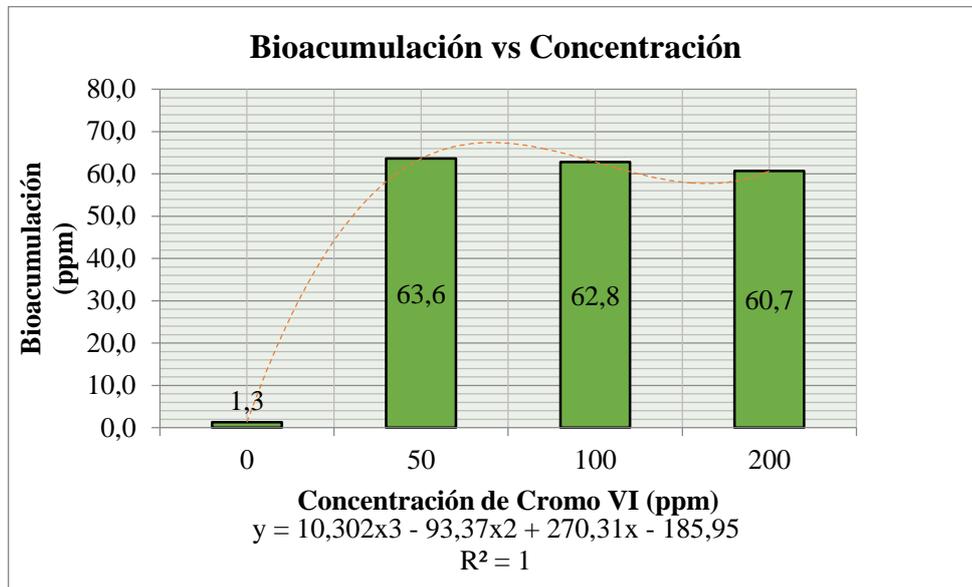
<b>Concentración (ppm)</b>	<b>Biocumulación (Raíz+Tallo+Hojas+Flores)</b>
0	1,3
50	63,6
100	62,8
200	60,7
300	0

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

Para el tratamiento de 0 ppm el nivel de cromo VI fue bajo; de acuerdo con Prieto en sus estudios de "Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua". (2009, pp.29) es normal ya que la planta presenta niveles naturales del metal.

Para la concentración de 300 ppm se mostró una fuerte toxicidad que produjo la mortalidad de las plantas utilizadas en el ensayo, esto debido a su  $DL_{50}$ = 139 ppm pues matemáticamente a

partir de los 278 ppm no existirán plantas, además el ajuste de la curva fue una función cúbica suave que no es inyectiva ya que puede presentar la misma bioacumulación en distintas concentraciones.



**Gráfico 17-3.** Relación Concentración vs Bioacumulación especie: *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En el gráfico 17-3 se pudo evidenciar en la concentración 50 ppm tiene un potencial mayor de bioacumulación en comparación con otras concentraciones debido a su estrategia de adaptación al metal denominada hórmesis que se ha desarrollado desde la etapa de germinación.

Para las concentraciones de 100 y 200 ppm se obtuvo un potencial menor para bioacumular cromo VI en toda su estructura pues se presentó una alta fitotoxicidad en sus primeras etapas de germinación lo que afectó en su desarrollo posterior (Emino y Warman, 2004, <http://www.tandfonline.com...>).

El valor de 63,67 ppm de cromo VI bioacumulado en su punto máximo fue menor al obtenido en investigaciones similares en donde se reportó un valor de 80 - 110 ppm como la máxima concentración tolerada, destacando que las condiciones experimentales fueron distintas. (Suárez A & Agudelo R, 2014).

### 3.7.1.1. Bioacumulación en la Radícula

Varios autores mencionan que la acumulación de los elementos químicos variaron en función de la estructura anatómica de la planta (raíz, tallo, hojas y granos). Las plantas asimilan el cromo

VI a través del sistema radicular, que puede transportarse hasta llegar al follaje. (Hernandez & Garcia, 2012, <http://www.scielo.org.mx/scielo...>)

**Tabla 46-3.** Niveles de Cromo VI en la radícula especie: *Z. aethiopica*

Concentraciones (ppm)	Repetición	Bioacumulación Cromo VI (ppm)	Bioacumulación Promedio (ppm)
Con 0	Exp 1	0,22	0,25
	Exp 2	0,29	
	Exp 3	0,25	
Con 50	Exp 1	10,67	10,32
	Exp 2	10,03	
	Exp 3	10,25	
Con 100	Exp 1	10,39	10,49
	Exp 2	10,41	
	Exp 3	10,68	
Con 300	Exp 1	15,17	15,31
	Exp 2	15,45	
	Exp 3	15,32	

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 46-3 en la primera columna se detalla las concentraciones utilizadas, comparadas en segunda columna donde se describe el número de repeticiones en cada concentración, el valor obtenido en la tercera columna correspondió a la concentración de cromo VI en cada experimento; para el análisis de los valores se aplicó ANOVA de un factor.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en la radícula de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en la radícula de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 47-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la radícula especie: *Z. aethiopica*.

ANOVA: Bioacumulación radícula					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	360,872	3	120,291	3148,280	,000
Dentro de grupos	,306	8	,038		
Total	361,177	11			

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

- Decisión**

En la especie *Zantendeschia aethiopica* mediante el análisis ANOVA (Tabla 47-3) se obtuvo un valor de  $p=0,00$  lo que determinó que existieron diferencias significativas entre la bioacumulación de las raíces con las distintas concentraciones de cromo VI utilizadas en el experimento, lo que afirmó que la bioacumulación en este órgano dependió de la dosis del cromoVI que se encontró en el medio.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en las concentraciones.

**Tabla 48-3.** Análisis Tukey Bioacumulación en la radícula especie: *Z. aethiopica*.

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-10,06333*	,15960	,000	-10,5744	-9,5522
	Con100	-10,24000*	,15960	,000	-10,7511	-9,7289
	Con200	-15,06000*	,15960	,000	-15,5711	-14,5489
Con50	Con0	10,06333*	,15960	,000	9,5522	10,5744
	Con100	-,17667	,15960	,696	-,6878	,3344
	Con200	-4,99667*	,15960	,000	-5,5078	-4,4856
Con100	Con0	10,24000*	,15960	,000	9,7289	10,7511
	Con50	,17667	,15960	,696	-,3344	,6878
	Con200	-4,82000*	,15960	,000	-5,3311	-4,3089
Con200	Con0	15,06000*	,15960	,000	14,5489	15,5711
	Con50	4,99667*	,15960	,000	4,4856	5,5078
	Con100	4,82000*	,15960	,000	4,3089	5,3311

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 48-3 se pudo observar el valor de p para las comparaciones entre distintas concentraciones. En la Con50-Con100 ( $p=0,696$ ) se logró determinar que no existió diferencias significativas, es decir que estadísticamente en estas dos concentraciones no influyó la dosis de tóxico aplicada. Esta decisión se afirmó con la Tabla 49-3 donde se apreció los subconjuntos formados.

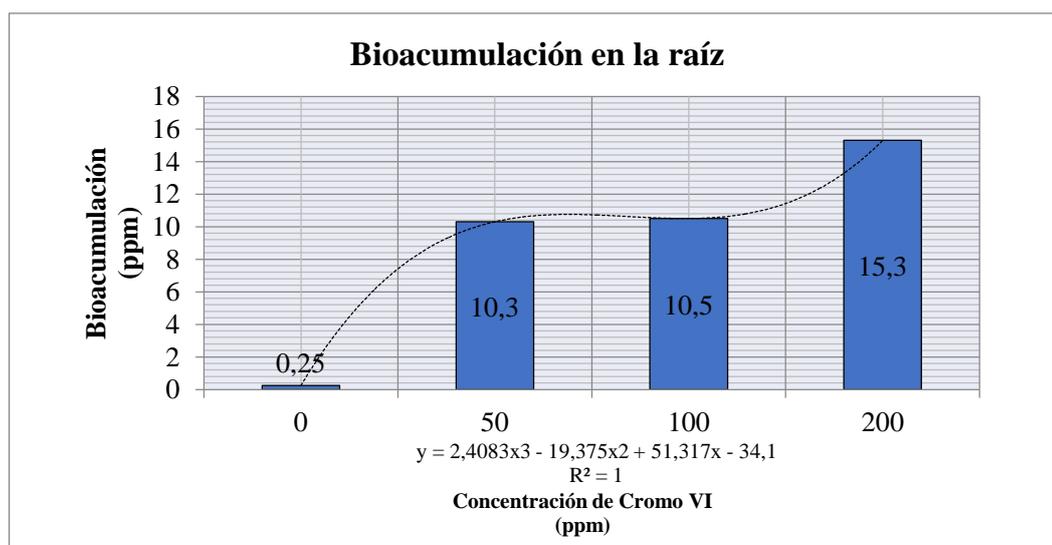
**Tabla 49-3.** Subconjuntos homogéneos Bioacumulación radícula especie: *Z. aethiopica*.

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Con0	3	,2533		
Con50	3		10,3167	
Con100	3		10,4933	
Con200	3			15,3133
Sig.		1,000	,696	1,000

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

De acuerdo con la Tabla 49-3 en sus columnas 3,4 y 5 se pudo determinar la formación de tres subconjuntos homogéneos (1: Con0; 2: Con50 y Con 100; 3: Con200 ) entre estos subconjuntos no existió estadísticamente diferencias significativas; es decir el tóxico no influyó en su capacidad de bioacumulación.

Se observó en el ajuste de la curva que fue de orden tres (cúbica), suave, no inyectiva ya que presentó la misma bioacumulación en dos concentraciones.



**Gráfico 18-3.** Relación tratamiento y bioacumulación de la radícula, *Z. aethiopica*.

Fuente: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

El Gráfico 18-3 mostró el comportamiento de la bioacumulación en la raíz de la planta a diferentes dosis de cromo VI, el comportamiento fue de tipo cúbico y directamente proporcional; es decir que a medida que la dosis aumentó en el ensayo, la raíz tendió a bioacumular en mayor cantidad el metal pesado dentro de su estructura.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función cúbica observada en el gráfico 18-3 y se determinó que el mínimo valor de bioacumulación en la raíz se dio en el tratamiento Con 100 mientras que el máximo valor de bioacumulación de cromo VI se dio a la Concentración de 50 ppm.

### 3.7.1.2. Bioacumulación en el tallo

A continuación se determinó la bioacumulación en el tallo de la especie *Zantendeschia aethiopica*.

**Tabla 50-3.** Niveles de cromo VI en el tallo especie: *Z. aethiopica*.

Concentraciones (ppm)	Repetición	Bioacumulación Cromo VI (ppm)	Bioacumulación Promedio (ppm)
Con 0	Exp 1	0,7	0,68
	Exp 2	0,66	
	Exp 3	0,69	
Con 50	Exp 1	11,16	11,14
	Exp 2	11,04	
	Exp 3	11,23	
Con 100	Exp 1	10,42	10,41
	Exp 2	10,31	
	Exp 3	10,51	
Con 200	Exp 1	15,32	15,34
	Exp 2	15,39	
	Exp 3	15,32	

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 50-3 en la primera columna se detalló las concentraciones utilizadas comparadas con los experimento en la segunda columna, el valor monitoreado fue la concentración de cromo VI para cada experimento; para el análisis de los valores utilizó ANOVA de un factor.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**H<sub>0</sub>:** Entre la concentración de cromo VI y capacidad de bioacumulación en el tallo de la especie *Zantendeschia aethiopica* no existieron diferencias significativas. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**H<sub>1</sub>:** Entre la concentración de Cromo VI y capacidad de bioacumulación en el tallo de la especie *Zantendeschia aethiopica* existieron diferencias significativas. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 51-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el tallo especie: *Z. aethiopica*.

ANOVA: Bioacumulación Tallo					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	346,108	3	115,369	21631,777	,000
Dentro de grupos	,043	8	,005		
Total	346,151	11			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

Mediante el análisis ANOVA (Tabla 51-3) de la bioacumulación en el tallo se obtuvo el valor de  $p=0,00$  lo que determinó que existieron diferencias significativas entre bioacumulación del tallo con las distintas concentraciones de cromo VI utilizadas en el experimento, es decir que la bioacumulación en este órgano dependió de la dosis del cromoVI que se encontró en el medio.

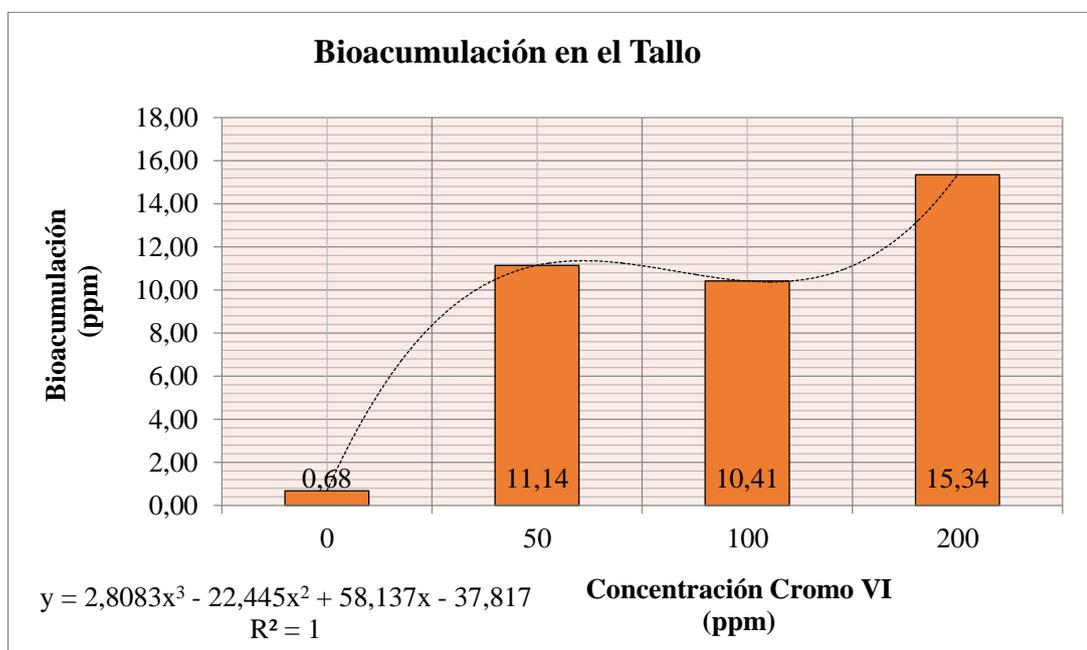
Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en las concentraciones.

**Tabla 52-3.** Análisis de Tukey de la Bioacumulación en el tallo especie: *Z. aethiopica*.

(I) Concentració n	(J) Concentració n	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-10,46000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-10,6510	-10,2690
	Con100	-9,73000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-9,9210	-9,5390
	Con200	-14,66000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-14,8510	-14,4690
Con50	Con0	10,46000 <sup>*</sup>	,05963	,000	10,2690	10,6510
	Con100	,73000 <sup>*</sup>	,05963	,000	,5390	,9210
	Con200	-4,20000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-4,3910	-4,0090
Con100	Con0	9,73000 <sup>*</sup>	,05963	,000	9,5390	9,9210
	Con50	-,73000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-,9210	-,5390
	Con200	-4,93000 <sup>*</sup>	,05963	,000	-5,1210	-4,7390
Con200	Con0	14,66000 <sup>*</sup>	,05963	,000	14,4690	14,8510
	Con50	4,20000 <sup>*</sup>	,05963	,000	4,0090	4,3910
	Con100	4,93000 <sup>*</sup>	,05963	,000	4,7390	5,1210

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 52-3 se encontró el p valor de las comparaciones múltiples (columna 5), en las cuales todas fueron menores a 0,05 es decir; que existieron diferencias significativas entre las concentraciones de cromo VI y su capacidad de bioacumulación en el tallo.



**Gráfico 19-3.** Relación Tratamientos-Bioacumulación en el tallo especie: *Z. aethiopica*.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

Mediante el Gráfico 19-3 se determinó el máximo valor de bioacumulación en los tallos de la especie en estudio, este valor fue de 15.5 ppm de cromo VI en una dosis de 200 ppm que representó una buena capacidad de acumulación.

La función del gráfico 19-3 es una regresión de tipo cúbica con una curva suave de tipo creciente, no inyectiva que es la que mejor se ajustó a los datos obtenidos en el análisis de laboratorio, con un factor de correlación de 1, con lo que se aseguró que exista una buena predicción.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función cúbica observada en el gráfico 19-3 y se determinó que el mínimo valor de bioacumulación en el tallo se dió en el tratamiento Con 100 mientras que el máximo valor de bioacumulación de cromo VI se dió a la Concentración de 50 ppm.

### 3.7.1.3. Bioacumulación en el hojas

En la Tabla 53-3 se encuentran los valores de cromo VI analizados en las hojas, para los valores de la concentración 300 no existieron datos debido a que todos los individuos del estudio murieron por efecto del tóxico.

**Tabla 53-3.** Niveles de Cromo VI en las hojas de la especie *Z. aethiopica*

Concentraciones (ppm)	Repetición	Bioacumulación Cromo VI (ppm)	Bioacumulación Promedio (ppm)
Con 0	Exp 1	0,3	0,33
	Exp 2	0,3	
	Exp 3	0,4	
Con 50	Exp 1	26,36	26,40
	Exp 2	26,44	
	Exp 3	26,4	
Con 100	Exp 1	29,21	29,28
	Exp 2	29,21	
	Exp 3	29,43	
Con 200	Exp 1	30,26	30,07
	Exp 2	29,96	
	Exp 3	29,98	
Con 300	Exp 1	-	-
	Exp 2	-	
	Exp 3	-	

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 53-3 en la tercera columna se encuentra el valor obtenido de la concentración de cromo VI en en cada experimento, para su análisis se utilizó ANOVA de un factor; en la cuarta columna se encuentran los datos de la bioacumulación promedio que se utilizó para la Gráfica 20-3.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en hojas de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las hojas de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 54-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la radícula especie: *Z. aethiopica*.

ANOVA: Bioacumulación_Hoja					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1818,012	3	606,004	49268,626	,000
Dentro de grupos	,098	8	,012		
Total	1818,111	11			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

El p valor obtenido en la sexta columna fue de 0,00 (Tabla 54-3), por lo que se aceptó la hipótesis alternativa (Hi) y se comprobó que el potencial de bioacumulación de las hojas fue diferente en cada concentración de cromo VI.

Para determinar en que concentraciones existió una diferencia significativa, se procedió a realizar el Test de Tukey.

**Tabla 55-3.** Comparaciones múltiples Tukey Bioacumulación-Hojas especie: *Z. aethiopica*.

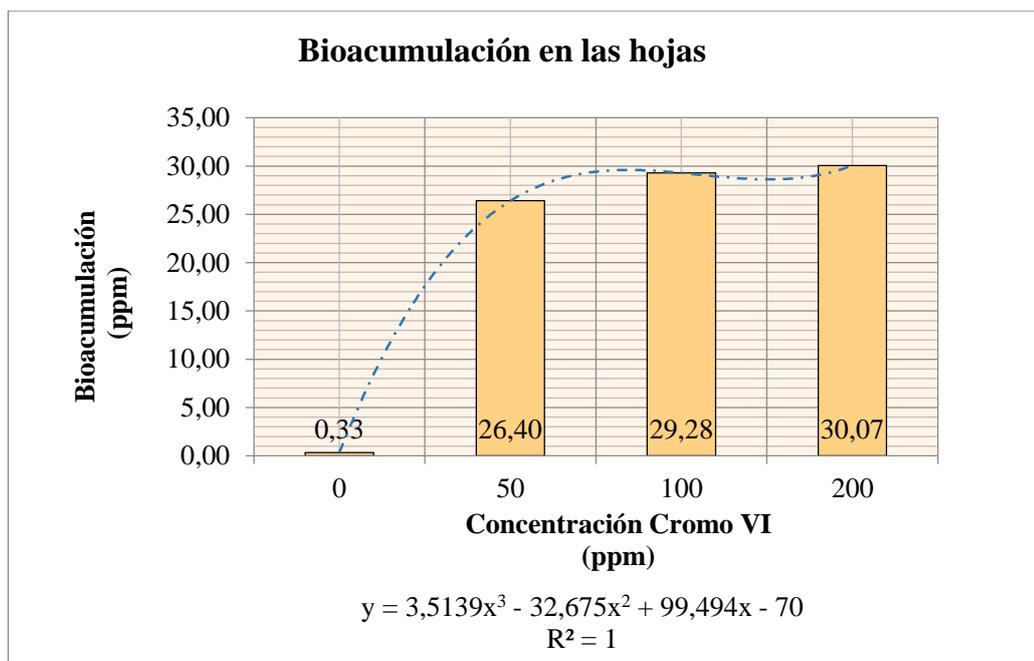
Concentración	Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-26,06667*	,09055	,000	-26,3567	-25,7767

	Con100	-28,95000*	,09055	,000	-29,2400	-28,6600
	Con200	-29,73333*	,09055	,000	-30,0233	-29,4433
Con50	Con0	26,06667*	,09055	,000	25,7767	26,3567
	Con100	-2,88333*	,09055	,000	-3,1733	-2,5933
	Con200	-3,66667*	,09055	,000	-3,9567	-3,3767
Con100	Con0	28,95000*	,09055	,000	28,6600	29,2400
	Con50	2,88333*	,09055	,000	2,5933	3,1733
	Con200	-,78333*	,09055	,000	-1,0733	-,4933
Con200	Con0	29,73333*	,09055	,000	29,4433	30,0233
	Con50	3,66667*	,09055	,000	3,3767	3,9567
	Con100	,78333*	,09055	,000	,4933	1,0733

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 55-3 se observó las comparaciones múltiples entre cada concentración respecto a su capacidad de bioacumulación. En la quinta columna se obtuvo el p valor= 0,0 en todas las comparaciones; afirmando que existieron diferencias significativas estadísticamente.

Como se observó en el gráfico 3-20 los datos de bioacumulación de cromo VI en las hojas se ajustaron a la ecuación cúbica:  $\text{Bioacumulación(ppm)} = 3,5139 * \text{Dosis}^3 - 32,675 * \text{Dosis}^2 + 99,494 * \text{Dosis} - 70$ , con la ecuación ajustada a los datos, se calculó la máxima bioacumulación por parte de las hojas de la especie *Zantendeschia aethiopica* la cual fue de 30,07 ppm de cromo VI.



**Gráfico 20-3.** Relación Tratamientos-Bioacumulación en hojas especie: *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

Se pudo observar una curva de tipo suave, no inyectiva debido una misma bioacumulación se dieron dos concentraciones iguales y del tipo creciente desde el tratamiento Con 0 hasta la Con 50 pues representó su dosis umbral.

Desde Con 100 hasta Con 200 se pudo observar que decreció levemente debido a que su DL50 estuvo en este rango; como mecanismo de adaptación la planta acumuló mayor cantidad en las hojas para posteriormente desde Con 200 el nivel de cromo VI aumentó hasta matar a la planta, por lo cual no existieron datos en la Con 300.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función cúbica observada en el gráfico 20-3 y se determinó que el máximo valor de bioacumulación en la hoja se dió en los rangos entre el tratamiento Con 50 y Con 100 mientras que el mínimo valor de bioacumulación de cromo VI se dió entre el rango de los tratamientos Con 200 y Con 300.

#### 3.7.1.4. Bioacumulación en la flor

En la Tabla 56-3 se encontraron los valores de cromo VI analizados en las flores de las distintas concentraciones, para los valores de las concentraciones 200 y 300 ppm no existieron valores debido a que todos los individuos de estudio murieron por el efecto del tóxico.

**Tabla 56-3.** Niveles de cromo VI en la flor de la especie *Z. aethiopica*

<b>Concentraciones (ppm)</b>	<b>Repetición</b>	<b>Bioacumulación Cromo VI (ppm)</b>	<b>Bioacumulación Promedio (ppm)</b>
Con 0	Exp 1	0	0,02
	Exp 2	0,02	
	Exp 3	0,03	
Con 50	Exp 1	15,54	15,80
	Exp 2	15,97	
	Exp 3	15,88	
Con 100	Exp 1	12,32	12,57
	Exp 2	12,51	
	Exp 3	12,87	
Con 200	Exp 1	0	0
	Exp 2	0	
	Continuación		

	Exp 3	0	
Con 300	Exp 1	0	0
	Exp 2	0	
	Exp 3	0	

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 56-3 en la tercera columna se encuentra el valor obtenido de la concentración de cromo VI en cada repetición, en la cuarta columna se encuentran los datos de la bioacumulación promedio que se utilizó para la Gráfica 21-3, para el análisis de los valores se utilizó ANOVA de un factor;

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las flores de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las flores de la especie *Zantendeschia aethiopica*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 57-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en la flor especie: *Z. aethiopica*.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	416,944	2	208,472	4822,018	0,000
Dentro de grupos	,259	6	0,043		
Total	417,203	8			

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

El p valor obtenido en la sexta columna es de 0,00 (Tabla 57-3), por lo que se aceptó la hipótesis alternativa (Hi); comprobando que el potencial de bioacumulación de las flores fue diferente en cada concentración de cromo VI.

Para determinar en que concentraciones existió esta diferencia significativa, se procedió a realizar el Test de Tukey.

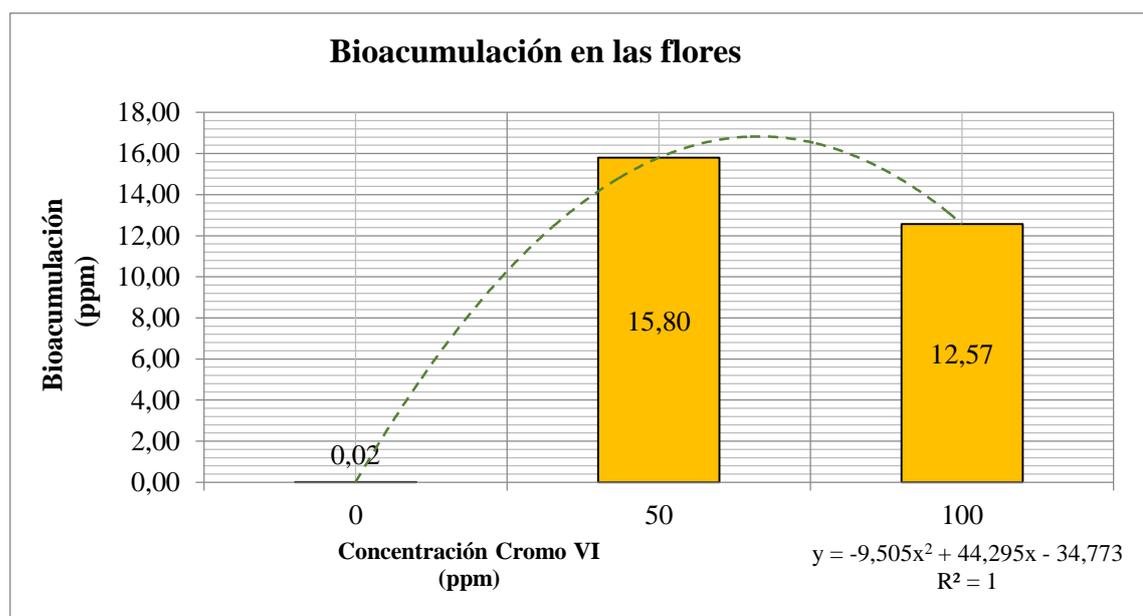
**Tabla 58-3.** Comparaciones múltiples Tukey Bioacumulación-Hojas especie: *Z. aethiopica*.

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con 50	Con 100	-15,780 <sup>*</sup>	,170	,000	-16,30	-15,26
	Con 200	-12,550 <sup>*</sup>	,170	,000	-13,07	-12,03
Con 100	Con 50	15,780 <sup>*</sup>	,170	,000	15,26	16,30
	Con 200	3,230 <sup>*</sup>	,170	,000	2,71	3,75
Con 200	Con 50	12,550 <sup>*</sup>	,170	,000	12,03	13,07
	Con 100	-3,230 <sup>*</sup>	,170	,000	-3,75	-2,71

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 58-3 se pudo observar las comparaciones múltiples entre cada concentración respecto a su capacidad de bioacumulación, en la quinta columna se observó el p valor= 0,0 en todas las comparaciones; afirmando que existieron diferencias significativas estadísticamente.

Los datos de bioacumulación de cromo VI en las flores se ajustaron a la ecuación cuadrática (Gráfico 3-21): Bioacumulación (ppm)=  $-9,505 \cdot \text{Dosis}^2 + 44,295 \cdot \text{Dosis} - 34$ , con la ecuación ajustada a los datos, se calculó la máxima bioacumulación por parte de las flores de la especie *Zantendeschia aethiopica* la cual fue de 15,08 ppm de cromo VI.



**Gráfico 21-3.** Relación Tratamientos-Bioacumulación en flores especie: *Z. aethiopica*

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

Se observó en el Gráfico 21-3 que el ajuste de la ecuación corresponde a una curva suave, no es inyectiva ya que para una misma bioacumulación se dió dos concentraciones, fue del tipo creciente desde el tratamiento Con 0 hasta el tratamiento Con 50 pues representa las dosis a las cuales el tóxico no generó daño grave, a partir de la concentración 50ppm fue decreciente, el tóxico actúa fuertemente en las flores y al presentar esta alta sensibilidad las plantas comenzaron a morir.

Se calculó el máximo de la función cuadrática observada en el gráfico 21-3 ya que es una función negativa y se determinó que este valor de máximo se encuentra en el tratamiento Con 50; con lo que se determinó que a esta concentración las flores bioacumularán mas cromo VI en su estructura.

### 3.7.1.5. Acumulación en el suelo

En la Tabla 59-3 se encuentran los valores de cromo VI analizados en el suelo de la investigación.

**Tabla 59-3.** Niveles de Cromo VI en el suelo especie: *Z. aethiopica*

Concentraciones (ppm)	Repetición	Bioacumulación Cromo VI (ppm)	Bioacumulación Promedio (ppm)
Con 0	Exp 1	0,15	0,16
	Exp 2	0,15	
	Exp 3	0,17	
Con 50	Exp 1	1,49	1,25
	Exp 2	1,07	
	Exp 3	1,2	
Con 100	Exp 1	2,01	1,39
	Exp 2	1,09	
	Exp 3	1,06	
Con 200	Exp 1	1,6	1,95
	Exp 2	2,06	
	Exp 3	2,2	
Con 300	Exp 1	1,03	1,16
	Exp 2	1,39	
	Exp 3	1,05	

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

En la Tabla 59-3 en la tercera columna se encontró el valor obtenido en la concentración de cromo VI en cada repetición, en la cuarta columna se observó los datos de la bioacumulación promedio que se utilizó para la Gráfica 22-3; para el análisis estadístico de los valores se utilizó ANOVA de un factor.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación del suelo. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación del suelo. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 60-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el suelo especie: *Z. aethiopica*.

ANOVA: Bioacumulación_Suelo					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,334	4	1,833	19,199	,000
Dentro de grupos	,955	10	,095		
Total	8,289	14			

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

En la Tabla 60-3 en la sexta columna, se detalló la obtención del p valor igual a 0,00; por lo que se acepta la hipótesis alternativa (Hi) comprobando que el potencial de bioacumulación del suelo fue diferente en cada concentración de cromo VI.

Para determinar en que concentraciones existieron diferencias significativas, se procedió a realizar el Test de Tukey.

**Tabla 61-3.** Comparaciones múltiples Acumulación-Suelo especie: *Z. aethiopica*.

Concentración	Concentración	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Con0	Con50	-1,09667*	,25231	,010	-1,9271	-,2663
Continuación						

	Con100	-1,23000*	,25231	,005	-2,0604	-,3996
	Con200	-1,79667*	,25231	,000	-2,6271	-,9663
	Con300	-2,00000*	,25231	,000	-2,8304	-1,1696
<b>Con50</b>	Con0	1,09667*	,25231	,010	,2663	1,9271
	Con100	-,13333	,25231	,982	-,9637	,6971
	Con200	-,70000	,25231	,111	-1,5304	,1304
	Con300	-,90333*	,25231	,032	-1,7337	-,0729
<b>Con100</b>	Con0	1,23000*	,25231	,005	,3996	2,0604
	Con50	,13333	,25231	,982	-,6971	,9637
	Con200	-,56667	,25231	,239	-1,3971	,2637
	Con300	-,77000	,25231	,072	-1,6004	,0604
<b>Con200</b>	Con0	1,79667*	,25231	,000	,9663	2,6271
	Con50	,70000	,25231	,111	-,1304	1,5304
	Con100	,56667	,25231	,239	-,2637	1,3971
	Con300	-,20333	,25231	,923	-1,0337	,6271
<b>Con300</b>	Con0	2,00000*	,25231	,000	1,1696	2,8304
	Con50	,90333*	,25231	,032	,0729	1,7337
	Con100	,77000	,25231	,072	-,0604	1,6004
	Con200	,20333	,25231	,923	-,6271	1,0337

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

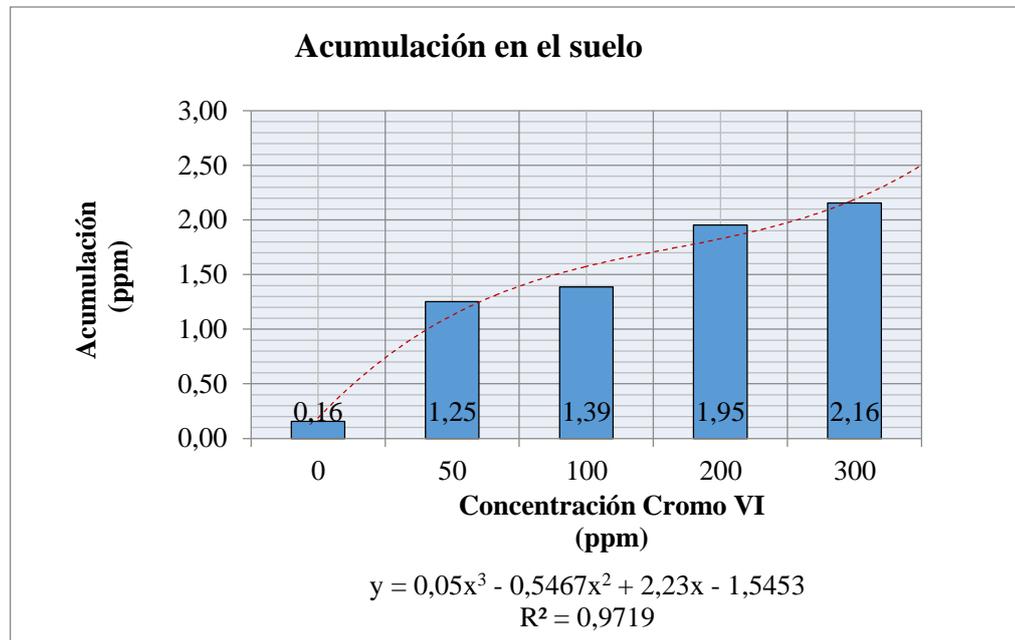
En la Tabla 61-3 se pudo observar las comparaciones múltiples entre cada concentración respecto a su capacidad de acumulación, en la quinta columna se observó el p valor en las relaciones que fueron mayores a 0,05 con lo que se determinó que no existieron diferencias significativas a nivel estadístico.

**Tabla 62-3.** Subconjuntos homogéneos acumulación del suelo especie: *Z. ethiopica*.

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Con0	3	,1567		
Con50	3		1,2533	
Con100	3		1,3867	1,3867
Con200	3		1,9533	1,9533
Con300	3			2,1567
Sig.		1,000	,111	,072

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

De acuerdo con la Tabla 62-3 se pudo observar en la primera fila los 3 subconjuntos formados en la investigación. La diferencia significativa que se calculó en la Tabla anova (61-3) es en relación a estos conjuntos.



**Gráfico 22-3.** Relación Tratamientos-Acumulación en el suelo especie: *Z. ethiopica*

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

Se pudo observar que la curva del ajuste de la ecuación es de tipo suave, inyectiva para cada efecto y creciente. La predicción nos arrojó un valor máximo de acumulación de 2,16 ppm de cromo VI en una dosis de 300 ppm, este valor resultó probablemente de la fácil reducción del cromo VI al estado trivalente (Rangel A, 2015), por lo que los resultados de laboratorio reportaron valores bajos.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función cúbica observada en el gráfico 22-3 y se determinó que el mínimo valor de acumulación en el suelo se dió en el rango de los tratamientos Con 50 y Con 100 mientras que el máximo valor de acumulación de cromo VI se dió en el rango de los tratamientos Con 200 y Con 300 ppm.

### 3.7.1.6. Factor de Bioconcentración (FB)

Se calculó el factor de bioconcentración (FB) a partir de los datos de cromo VI disponibles en la biomasa aérea de la planta y en el suelo, en los tratamientos Con 50, Con 100 y Con 200.

**Tabla 63-3.** Factor de bioconcentración especie: *Z. aethiopica*.

<b>Tratamientos</b>	<b>Cromo VI disponible en la biomasa aérea</b>	<b>Cromo VI disponible en el suelo</b>	<b>Factor de bioconcentración (FB)</b>
Con 50	53,3	1,25	<b>42,64</b>
Con 100	52,3	1,39	<b>37,62589928</b>
Con 200	45,4	1,95	<b>23,28205128</b>

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

El factor de bioconcentración calculado en la segunda columna es muy variante, con una media de 34.52, se destacó el tratamiento Con 50 que correspondió a la dosis de 50 ppm de cromo VI el factor de bioconcentración fue mayor, por lo que el FB mostró un comportamiento que a medida que la dosis disminuyó el mismo aumentó, y es lo que se buscó al estudiar especies vegetales con potencial fitoextractor.

Finalmente McGrath y Zhao (2003; citado en: Do Carmo L, 2013) hizo referencia a que si los valores de FB sobrepasaron por encima de 20, indicó que la especie en estudio, en este caso *Zantendeschia aethiopica* tuvo potencial fitorremediador por su gran acumulación del metal pesado en los diferentes órganos vegetales.

### 3.7.1.7. Factor de Traslocación.(FT)

**Tabla 64-3.** Factores de traslocación (FT) especie de *Z. aethiopica*.

<b>Tratamientos</b>	<b>Cr6+ disponible en la biomasa aérea</b>	<b>Cr6+ disponible en la raíz</b>	<b>Factor de translocación FT</b>
C50	53,3	10,3	<b>5,174757282</b>
CON 000	52,3	10,5	<b>4,980952381</b>
C200	45,4	15,3	<b>2,967320261</b>

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

El factor de traslocación (FT) fue calculado en la cuarta columna (Tabla 64-3) para los tres tratamientos Con 50, Con 100 y Con 200 en donde al igual que en el FB de *Z. aethiopica*, a menores dosis mayor es el FT, siendo el más significativo el tratamiento Con 50 con un valor FT de 5,17; que al ser mayor que 1 según la especie se consideró una buena transportadora de

metales pesados desde la raíz hacia los órganos aéreos, lo que la hace una especie fitoextractora. (Audet y Charest 2007; citado en: Medina K & Montano Y, 2014).

### 3.8. Etapa III Análisis de la Información: Especie *Helianthus annuus*

Se mencionó que la etapa de crecimiento de las especies tuvo diferentes tiempos de duración, para la especie *Helianthus annuus* fue de 180 días considerando un tiempo medio de floración de 87 días (Aguilar J, 2001), en este caso, el tiempo empleado para los ensayos descritos aquí, fue mayor debido a las condiciones establecidas para esta investigación.

#### 3.8.1. Bioacumulación por Órganos

En cuanto a la bioacumulación de cromo VI en los diferentes órganos de la especie *Helianthus annuus*, se presentaron los siguientes resultados en la tabla 65-3 obtenidos en laboratorio.

**Tabla 65-3.** Niveles de cromo VI en los órganos de la especie *H. annuus*.

Girasol	Órgano Vegetal	Raíz	Tallo	Hojas	Flor	Suelo
Concentraciones de Cromo 6+	Con 0	0,2	0,81	0,2	0,02	0
	Con 50	8,3	13,4	17,9	16,1	1,3
	Con 100	9,5	10,5	14,5	13,3	1,18
	Con 200	12,3	15,3	31,1	0	0,8
	Con 300	19,6	20,1	31,5	0	1,4

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016.

La Tabla 65-3 representa los valores obtenidos en laboratorio de las concentraciones de cromo VI bioacumuladas en diferentes órganos de la planta, es así que de manera horizontal se tiene los órganos considerados para la presente investigación y de manera vertical se encuentra los 5 tratamientos aplicados en la fase de crecimiento de la especie *H. annuus*.

En cuanto a los valores para el tratamiento Con 0 fueron mínimos por la presencia intrínseca del compuesto dentro de la estructura de la planta (Azpilicueta C, et al., 2010), para Con 50 y Con 100 se obtuvieron resultados en todos los órganos de la planta (raíz, tallo, hojas y flores) y el suelo de la maceta; mientras que en Con 200 y Con 300 existieron datos de bioacumulación de cromo VI

en todos los órganos de la planta excepto en la flor debido a que la planta no alcanzó con éxito el estado de maduración.

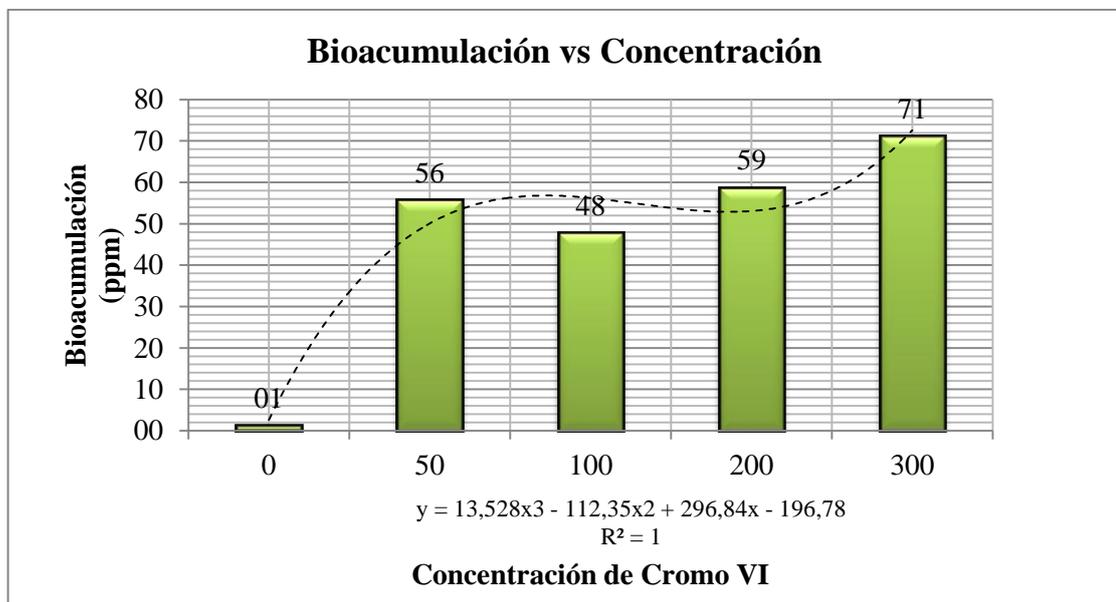
Para detallar la bioacumulación en la planta se procedió a realizar una nueva Tabla 66-3 donde se relacionó con la concentración de cromo VI.

**Tabla 66-3.** Valores de bioacumulación en la especie *H. annuus*.

Concentración (ppm)	Biocumulación (R+T+H+F)
0	1,2
50	55,7
100	47,8
200	58,7
300	71,2

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

En la tabla 66-3 se expresó la sumatoria de las bioconcentraciones de cada órgano de la planta por cada tratamiento, con tales datos se realizó el respectivo análisis estadístico presentado a continuación.



**Gráfico 23-3.** Relación Concentración-Bioacumulación de cromo VI especie *H. annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

La gráfica 23-3 mostró una función cúbica: suave, inyectiva, del tipo creciente desde la Con 0 hasta la Con 50 pues representó su dosis umbral, se mostró el comportamiento de la

bioacumulación total de *H. annuus* a diferentes dosis de cromo VI desde 0 a 300 ppm, como se pudo observar los pares de puntos ordenados mostraron una tendencia cúbica pues existen rangos en los que la curva fue una función negativa mientras en otro rango positiva, por lo que se realizó una regresión, en la cual se obtuvo la ecuación que explicó esta tendencia.

Analizando la gráfica se obtuvo los siguientes resultados: para el tratamiento Con 0 el valor de bioacumulación es mínimo por lo que el cromo VI se encuentra de forma natural en la estructura de la planta. (Azpilicueta C, et al., 2010).

Desde el tratamiento Con 50 a Con 100 se encontró la primera inflexión de la curva en la cual tiende a ser negativa, este comportamiento se debió a que en el tratamiento Con 50 se presentó mayor desarrollo de la estructura de la planta por el efecto de hormesis (Do Carmo L, 2013) , lo que se traduce en un porcentaje alto de bioacumulación por parte de los órganos que se desarrollaron más que el observado en el control, mientras que en Con 100 este valor de bioacumulación disminuyó por el hecho de que a esta dosis uno de los efectos de toxicidad en la planta fue el decrecimiento en el ancho, altura y grosor de los órganos susceptibles a bioacumular cromo VI (Naidu, et al., 2003 citado en: Ministerio de Agricultura de Chile, s.f). por lo que el grado de bioacumulación tendió a disminuir.

Del tratamiento Con 200 a Con 300 se observó un aumento en el valor de bioacumulación, este comportamiento probablemente fue debido a que en este rango se encontró la  $DL_{50}$  cuyo valor fue de 164 ppm y al existir la mitad de individuos vivos se los forzó a bioacumular un valor mayor de cromo VI en su estructura la cual tendió a desarrollar mecanismos de adaptación al tóxico. (Barceló J & Poschenrieder Ch, 1992)

El máximo valor de bioacumulación total de la especie *H. annuus* en la presente investigación fue de 71 ppm de cromo VI, si comparamos este valor con otros autores tenemos que Araiza J (2006) reportó en su investigación un valor de aproximadamente de 78 ppm de cromo VI, que fue mayor que el reportado aquí, la diferencia entre estos valores se debió a que las condiciones experimentales en las que fueron llevados a cabo las etapas de crecimiento no fueron las mismas.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función cúbica observada en el gráfico 23-3 y se determinó que el máximo valor de bioacumulación total se dió en el rango de los tratamientos Con 50 y Con 100 mientras que el mínimo valor de acumulación de cromo VI se dió en el rango de los tratamientos Con 100 y Con 200 ppm.

Así mismo se realizaron los cálculos de bioacumulación por cada órgano de la planta considerado en este estudio mediante un análisis ANOVA y el método Tukey de comparaciones múltiples, obteniéndose los siguientes resultados.

### 3.8.1.1. Bioacumulación en la radícula.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**H<sub>0</sub>:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en la radícula de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**H<sub>1</sub>:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y capacidad de bioacumulación en la radícula de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 67-3.** Análisis ANOVA Bioacumulación en la radícula especie: *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	592,016	4	148,004	2654,624	,000
Dentro de grupos	,558	10	,056		
Total	592,574	14			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

- **Decisión**

En la especie *Helianthus annuus*. mediante el análisis ANOVA (Tabla 67-3) se obtuvo un p-valor de 0 como es menor a 0,05 se rechazó la hipótesis nula, por lo que los tratamientos afectan a la bioacumulación de cromo VI por parte de la raíz, por lo que el grado de bioacumulación dependió de la dosis.

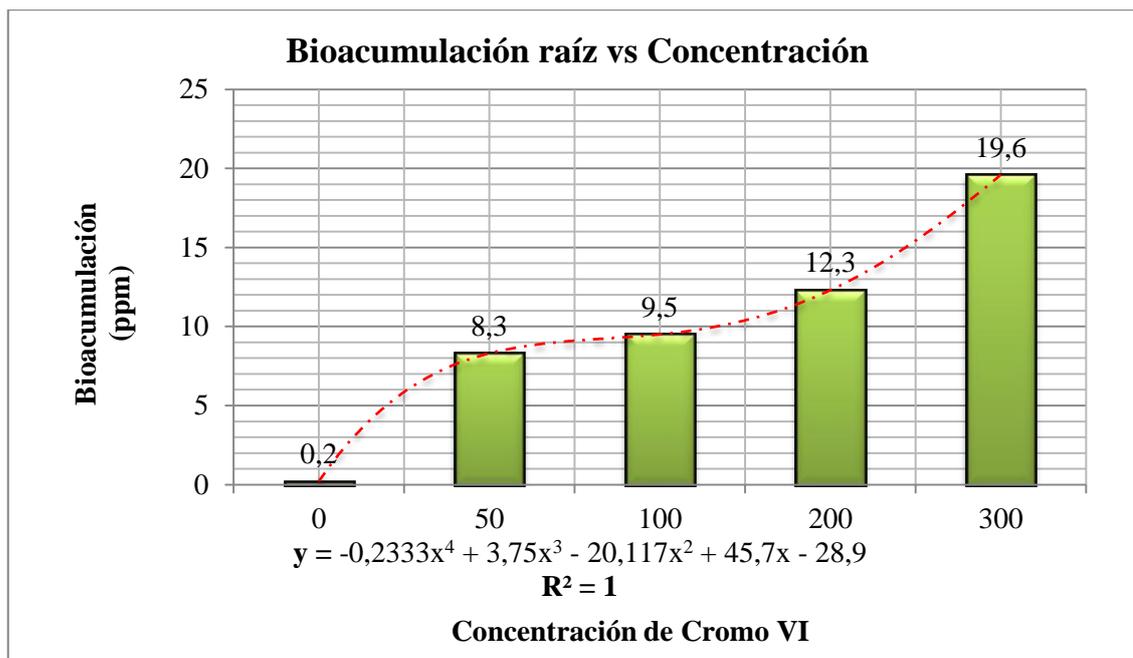
Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

**Tabla 68-3.** Análisis de Tukey de la Bioacumulación en la radícula especie: *H. annuus*

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-8,12333*	,19279	,000	-8,7578	-7,4888
	100 ppm	-9,30000*	,19279	,000	-9,9345	-8,6655
	200 ppm	-12,09000*	,19279	,000	-12,7245	-11,4555
	300 ppm	-19,44333*	,19279	,000	-20,0778	-18,8088
50 ppm	0 ppm	8,12333*	,19279	,000	7,4888	8,7578
	100 ppm	-1,17667*	,19279	,001	-1,8112	-,5422
	200 ppm	-3,96667*	,19279	,000	-4,6012	-3,3322
	300 ppm	-11,32000*	,19279	,000	-11,9545	-10,6855
100 ppm	0 ppm	9,30000*	,19279	,000	8,6655	9,9345
	50 ppm	1,17667*	,19279	,001	,5422	1,8112
	200 ppm	-2,79000*	,19279	,000	-3,4245	-2,1555
	300 ppm	-10,14333*	,19279	,000	-10,7778	-9,5088
200 ppm	0 ppm	12,09000*	,19279	,000	11,4555	12,7245
	50 ppm	3,96667*	,19279	,000	3,3322	4,6012
	100 ppm	2,79000*	,19279	,000	2,1555	3,4245
	300 ppm	-7,35333*	,19279	,000	-7,9878	-6,7188
300 ppm	0 ppm	19,44333*	,19279	,000	18,8088	20,0778
	50 ppm	11,32000*	,19279	,000	10,6855	11,9545
	100 ppm	10,14333*	,19279	,000	9,5088	10,7778
	200 ppm	7,35333*	,19279	,000	6,7188	7,9878

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En todas las comparaciones el p-valor o Sig de la columna 5 de la tabla 68-3 fue 0 que por ser menor que 0,05 se concluyó que estadísticamente en todos los tratamientos existió una diferencia significativa en sus valores de bioacumulación por lo que la bioacumulación en raíces de la especie *Hlianthus annuus* dependió estrictamente de la dosis a la que fue sometida.



**Gráfico 24-3.** Relación tratamientos-bioacumulación en la raíz especie *H. annuus*.

**Realizado por:** GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 24-3 la función fue polinomial de orden cuarta: suave, no es inyectiva por que para una misma bioacumulación pueden darse dos concentraciones. Fue del tipo creciente desde la Con 0 hasta la Con 50 pues se representó su dosis umbral, se observó la tendencia creciente de los valores de bioacumulación en el órgano raíz debido al potencial de la raíz de *H. annuus* de concentrar metales pesados en su estructura. (Gutiérrez L.R et al., 2011).

Se observó que el valor máximo de bioacumulación en la radícula es de 19,6 ppm de cromo VI al comparar este resultado con estudios similares, se obtuvo que en las condiciones establecidas en la presente investigación la raíz de *H. annuus* bioacumuló menos que la reportada en la investigación de (Araiza J et al., 2006), en donde se estimó una bioacumulación de 23 ppm en la raíz de dicha especie, por lo que el tiempo de exposición jugó un papel muy importante en la bioacumulación ya que en la presente investigación este tiempo fue mayor por lo que los mecanismos de transporte condujeron una mayor proporción de cromo VI a los órganos aéreos de *H. annuus* (Ministerio de Agricultura de Chile, s.f), obteniéndose una menor concentración del metal en las raíces.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función de cuarto orden observada en el gráfico 23-3 y se determinó que existió un mínimo valor de bioacumulación en la raíz que se dio en el tratamiento de Con 100 mientras que se obtuvieron dos valores máximos de bioacumulación de cromo VI en los tratamientos Con 50 y Con 300.

### 3.8.1.2. Bioacumulación en tallos.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la capacidad de bioacumulación en el tallo de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de Cromo VI y la capacidad de bioacumulación en el tallo de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 69-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en el tallo especie: *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	618,047	4	154,512	1205,868	,000
Dentro de grupos	1,281	10	,128		
Total	619,329	14			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

- **Decisión**

En la especie *Helianthus annuus*. mediante el análisis ANOVA (Tabla 69-3) se obtuvo un p-valor de 0 como fue menor a 0,05 se rechazó la hipótesis nula, por lo que los tratamientos afectaron a la bioacumulación de cromo VI por parte del tallo, por lo que el grado de bioacumulación dependió de la dosis.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

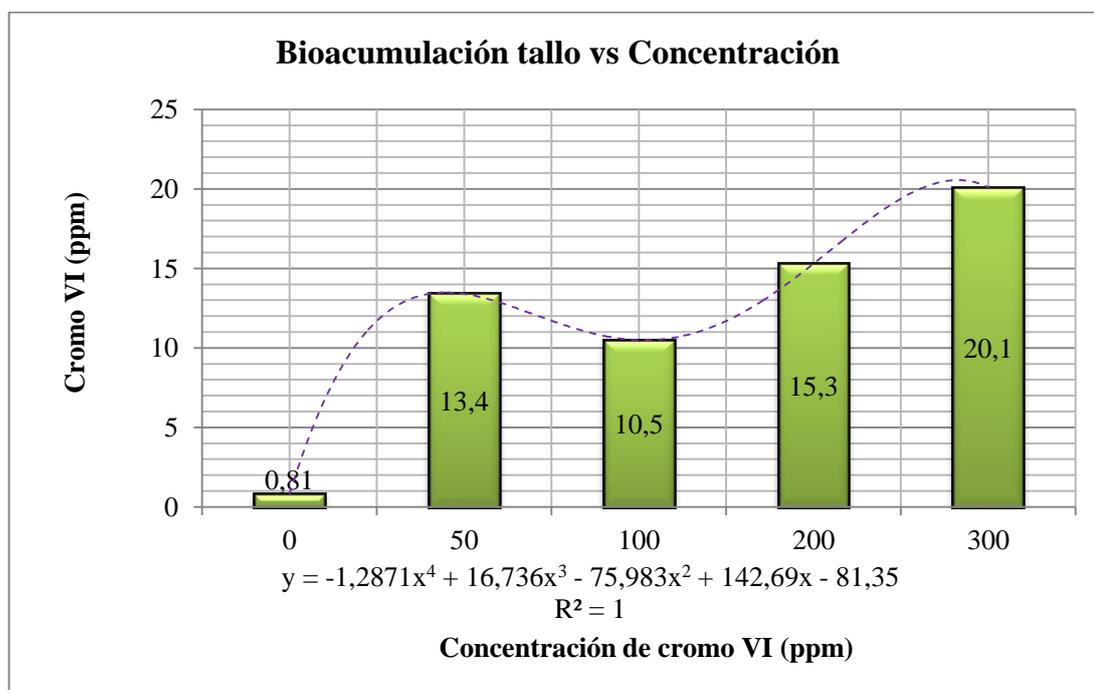
**Tabla 70-3.** Análisis de Tukey de la Bioacumulación en el tallo especie: *H. annuus*.

Tratamiento	Tratamiento	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-12,59333*	,29227	,000	-13,5552	-11,6314
	100 ppm	-9,73000*	,29227	,000	-10,6919	-8,7681
Continuación						

	200 ppm	-14,46333*	,29227	,000	-15,4252	-13,5014
	300 ppm	-19,31333*	,29227	,000	-20,2752	-18,3514
50 ppm	0 ppm	12,59333*	,29227	,000	11,6314	13,5552
	100 ppm	2,86333*	,29227	,000	1,9014	3,8252
	200 ppm	-1,87000*	,29227	,001	-2,8319	-,9081
	300 ppm	-6,72000*	,29227	,000	-7,6819	-5,7581
100 ppm	0 ppm	9,73000*	,29227	,000	8,7681	10,6919
	50 ppm	-2,86333*	,29227	,000	-3,8252	-1,9014
	200 ppm	-4,73333*	,29227	,000	-5,6952	-3,7714
	300 ppm	-9,58333*	,29227	,000	-10,5452	-8,6214
200 ppm	0 ppm	14,46333*	,29227	,000	13,5014	15,4252
	50 ppm	1,87000*	,29227	,001	,9081	2,8319
	100 ppm	4,73333*	,29227	,000	3,7714	5,6952
	300 ppm	-4,85000*	,29227	,000	-5,8119	-3,8881
300 ppm	0 ppm	19,31333*	,29227	,000	18,3514	20,2752
	50 ppm	6,72000*	,29227	,000	5,7581	7,6819
	100 ppm	9,58333*	,29227	,000	8,6214	10,5452
	200 ppm	4,85000*	,29227	,000	3,8881	5,8119

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En todas las comparaciones el p-valor o Sig de la columna 5 de la tabla 70-3 fue de 0 que por ser menor que 0,05 se concluyó que estadísticamente en todos los tratamientos existió una diferencia significativa en sus valores de bioacumulación por lo que esta última dependió estrictamente de la dosis a la que se sometió.



**Gráfico 25-3.** Relación Concentración-Bioacumulación en el tallo: especie *H. annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la grafica 25-3 se pudo observar que la función fue polinomial de cuarto orden, esta función es suave e inyectiva, el máximo valor de bioacumulación fue de 20,1 ppm de cromo VI, mientras que según el autor Araiza J et al (2006) en su investigación reportó que el tallo bioacumula alrededor de 6 ppm de cromo VI, un valor muy distante del reportado en la presente, lo que se explicó por el tiempo de exposición a la cual fue sometida la especie, siendo mucho mayor la descrita aquí, además se mencionó anteriormente que la raíz de *H. annuus* bioacumuló gran cantidad del tóxico pero debido a los mecanismos de transporte adaptados en el transcurso del tiempo de exposición, este metal pesado es traslocado a los órganos aéreos, es por eso que la bioacumulación reportada en la presente investigación fue mayor.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función de cuarto orden observada en el gráfico 25-3 y se determinó que existió un mínimo valor de bioacumulación en el tallo que se dio en el tratamiento de Con 100 mientras que se obtuvieron dos valores máximos de bioacumulación de cromo VI en los tratamientos Con 50 y Con 300.

### 3.8.1.3. Bioacumulación en las hojas.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las hojas de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las hojas de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 71-3.** Análisis ANOVA Bioacumulación en las hojas especie: *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2034,011	4	508,503	5185,629	,000
Dentro de grupos	,981	10	,098		
Total	2034,992	14			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

- **Decisión**

En la especie *Helianthus annuus*. mediante el análisis ANOVA (Tabla 71-3) se obtuvo un p-valor de 0 como es menor a 0,05 se rechazó la hipótesis nula, por lo que los tratamientos afectan a la bioacumulación de cromo VI en el órgano hojas, por lo que el grado de bioacumulación en este órgano dependió de la dosis.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

**Tabla 72-3.** Análisis de Tukey de la Bioacumulación en hojas especie: *H. annuus*

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-17,67333*	,25568	,000	-18,5148	-16,8319
	100 ppm	-14,29333*	,25568	,000	-15,1348	-13,4519
	200 ppm	-30,90333*	,25568	,000	-31,7448	-30,0619
	300 ppm	-31,31000*	,25568	,000	-32,1515	-30,4685
50 ppm	0 ppm	17,67333*	,25568	,000	16,8319	18,5148
	100 ppm	3,38000*	,25568	,000	2,5385	4,2215
	200 ppm	-13,23000*	,25568	,000	-14,0715	-12,3885
	300 ppm	-13,63667*	,25568	,000	-14,4781	-12,7952
100 ppm	0 ppm	14,29333*	,25568	,000	13,4519	15,1348
	50 ppm	-3,38000*	,25568	,000	-4,2215	-2,5385
	200 ppm	-16,61000*	,25568	,000	-17,4515	-15,7685
	300 ppm	-17,01667*	,25568	,000	-17,8581	-16,1752
200 ppm	0 ppm	30,90333*	,25568	,000	30,0619	31,7448
	50 ppm	13,23000*	,25568	,000	12,3885	14,0715
	100 ppm	16,61000*	,25568	,000	15,7685	17,4515
	300 ppm	-,40667	,25568	,534	-1,2481	,4348
300 ppm	0 ppm	31,31000*	,25568	,000	30,4685	32,1515
	50 ppm	13,63667*	,25568	,000	12,7952	14,4781
	100 ppm	17,01667*	,25568	,000	16,1752	17,8581
	200 ppm	,40667	,25568	,534	-,4348	1,2481

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

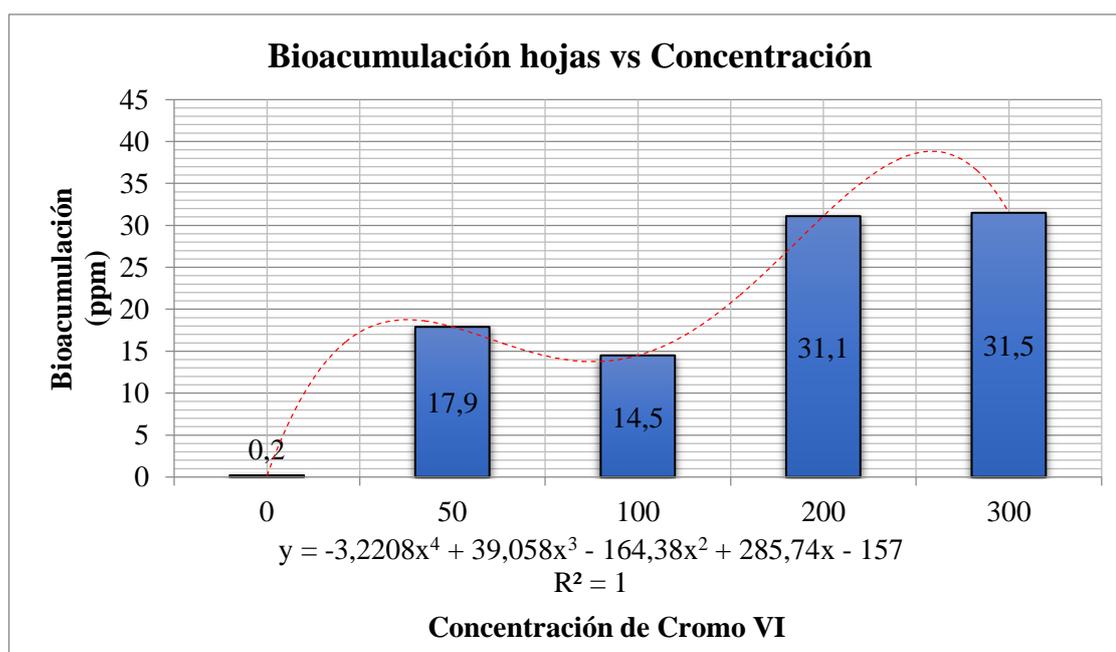
Existió una sola comparación con un p-valor mayor a 0,05, esta comparación fue la de los tratamientos Con 200-Con 300, dicho valor indicó que en estos tratamientos la dosis no incidió significativamente en la bioacumulación de cromo VI en las hojas de la especie *H. annuus*, mientras que en los demás tratamientos esta dosis afectó a la bioacumulación de cromo VI.

**Tabla 73-3.** Subconjuntos homogéneos Bioacumulación en hojas especie: *H.annuus*.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
0 ppm	3	,2000			
100 ppm	3		14,4933		
50 ppm	3			17,8733	
200 ppm	3				31,1033
300 ppm	3				31,5100
Sig.		1,000	1,000	1,000	,534

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 73-3 se comprobó lo dicho anteriormente acerca de la comparación entre los tratamientos Con 200-Con 300, pues los mismos se encontraron como elementos de un mismo subconjunto, mientras que los tratamientos restantes formaron subconjuntos distintos.



**Gráfico 26-3.** Relación Concentración-Bioacumulación en las hojas: especie *H. annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 26-3 la tendencia fue una curva suave, inyectiva en la misma se observó una fracción creciente de los valores de bioacumulación en el órgano hojas debido al potencial de *H. annuus* de concentrar metales pesados en su estructura y al gran número de las mismas presentes en la planta. La máxima bioacumulación alcanzada por las hojas de *H. annuus* fue de 31,5 ppm de  $\text{Cr}^{6+}$ , la misma que fue más alta que la reportada por (Araiza J et al., 2006) que fue de 9 ppm, por lo que se presume no existió el tiempo suficiente para la traslocación del metal pesado hacia el tallo y las hojas. (Zhao, 2002; citado en: Medina K. & Montano Y., 2014).

Se calcularon los máximos y mínimos de la función de cuarto orden observada en el gráfico 26-3 y se determinó que existió un mínimo valor de bioacumulación en las hojas que se dio el tratamiento de Con 100 mientras que se obtuvieron dos valores máximos de bioacumulación de cromo VI en los rangos de los tratamientos Con 0 y Con 50 y el otro valor máximo de bioacumulación se halló en el rango de los tratamientos Con 200 y Con 300.

#### 3.8.1.4. Bioacumulación en flores

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las flores de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la capacidad de bioacumulación en las flores de la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 74-3.** Análisis ANOVA de la Bioacumulación en flores especie: *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	788,761	4	197,190	15060,346	,000
Dentro de grupos	,131	10	,013		
Total	788,891	14			

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

- **Decisión**

En la especie *Helianthus annuus*. mediante el análisis ANOVA (Tabla 74-3) se obtuvo un p-valor de 0 como fue menor a 0,05 se rechazó la hipótesis nula, por lo que los tratamientos afectaron a la bioacumulación de cromo VI en las hojas, por lo que el grado de bioacumulación en este órgano dependió de la dosis.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

**Tabla 75-3.** Análisis de Tukey de la Bioacumulación en hojas especie: *H. annuus*

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-16,09333*	,09343	,000	-16,4008	-15,7859
	100 ppm	-13,25667*	,09343	,000	-13,5641	-12,9492
	200 ppm	,02000	,09343	,999	-,2875	,3275
	300 ppm	,02000	,09343	,999	-,2875	,3275
50 ppm	0 ppm	16,09333*	,09343	,000	15,7859	16,4008
	100 ppm	2,83667*	,09343	,000	2,5292	3,1441
	200 ppm	16,11333*	,09343	,000	15,8059	16,4208
	300 ppm	16,11333*	,09343	,000	15,8059	16,4208
100 ppm	0 ppm	13,25667*	,09343	,000	12,9492	13,5641
	50 ppm	-2,83667*	,09343	,000	-3,1441	-2,5292
	200 ppm	13,27667*	,09343	,000	12,9692	13,5841
	300 ppm	13,27667*	,09343	,000	12,9692	13,5841
200 ppm	0 ppm	-,02000	,09343	,999	-,3275	,2875
	50 ppm	-16,11333*	,09343	,000	-16,4208	-15,8059
	100 ppm	-13,27667*	,09343	,000	-13,5841	-12,9692
	300 ppm	,00000	,09343	1,000	-,3075	,3075
300 ppm	0 ppm	-,02000	,09343	,999	-,3275	,2875
	50 ppm	-16,11333*	,09343	,000	-16,4208	-15,8059
	100 ppm	-13,27667*	,09343	,000	-13,5841	-12,9692
	200 ppm	,00000	,09343	1,000	-,3075	,3075

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 75-3, se observó que las comparaciones en donde no existió una diferencia significativa en los valores de bioacumulación en flores fueron en los tratamientos Con 0-Con 200, Con 0-Con 300 y Con 200-Con300 por lo que en tales tratamientos la dosis no afectó a la

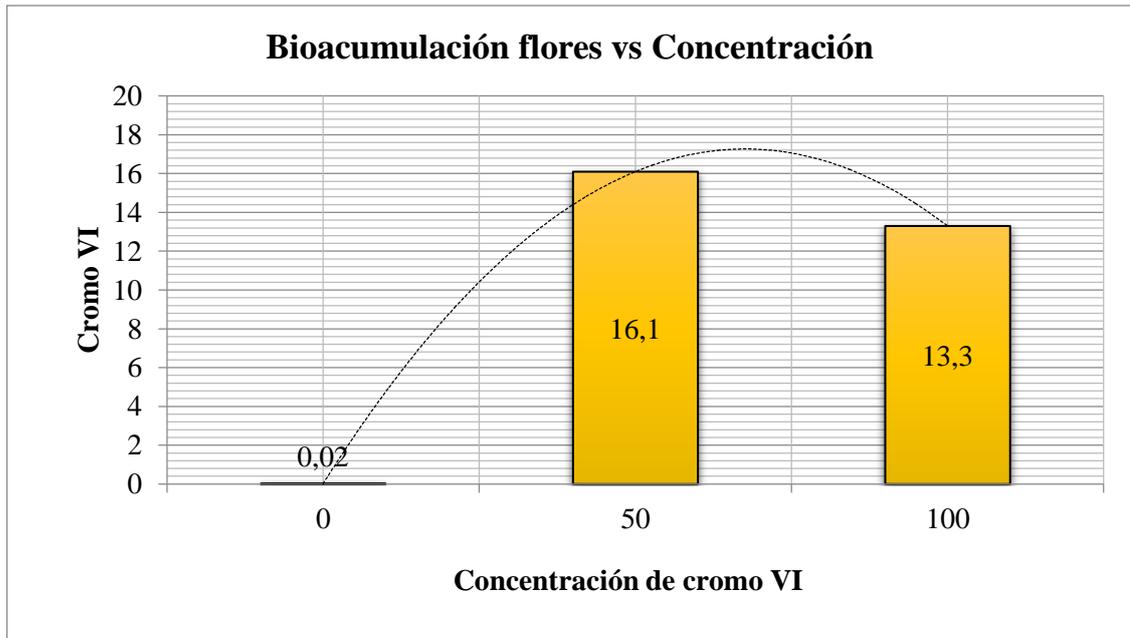
bioacumulación de las flores de la especie *H. annuus*, mientras que en los demás tratamientos esta dosis afecta a la bioacumulación de cromo VI.

**Tabla 76-3.** Subconjuntos homogéneos de Bioacumulación en flores especie: *H.annuus*.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
200 ppm	3	,0000		
300 ppm	3	,0000		
0 ppm	3	,0200		
100 ppm	3		13,2767	
50 ppm	3			16,1133
Sig.		,999	1,000	1,000

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 76-3 se comprobó lo dicho anteriormente acerca de la comparación entre los tratamientos Con 0-Con 200, Con 0-Con 300 y Con 200-Con 300, pues los mismos se encontraron como elementos de un mismo subconjunto, por lo que estos tratamientos la dosis no afectó el grado de bioacumulación de las flores, mientras que los tratamientos restantes formaron subconjuntos distintos en donde se concluyó que el grado de bioacumulación de las flores de *H. annuus* dependió de la dosis de cromo VI.



**Gráfico 27-3.** Relación Tratamientos-Bioacumulación en flores especie: *H. annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En el gráfico 27-3 se observó una tendencia curva negativa suave, no inyectiva; que se caracterizó por un punto crítico o máximo, este valor máximo fue de 16,1 ppm de cromo VI que puede ser almacenado en las flores de *H. annuus*, es importante resaltar que solamente existieron tres valores, puesto que en los tratamientos Con 200 y Con 300, la especie no alcanzó al grado de maduración para el desarrollo de flores.

Se calculó el máximo de la función de segundo orden observada en el gráfico 27-3 y se determinó que existió un máximo valor de bioacumulación en las flores que se dió en el tratamiento de Con 50 estimado de 17, 26 ppm de cromo VI.

### 3.8.1.5. Concentración en el suelo.

- **Planteamiento de la hipótesis.**

**Ho:** No existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la concentración en el suelo cultivado con la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es mayor o igual a 0,05 se acepta la hipótesis nula.

**Hi:** Existieron diferencias significativas entre la concentración de cromo VI y la concentración en el suelo cultivado con la especie *Helianthus annuus*. Si p valor es menor a 0,05 se acepta la hipótesis alternativa.

**Tabla 77-3.** Análisis ANOVA acumulación de cromo VI en el suelo especie: *H. annuus*.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,815	4	,954	162,037	0,000
Dentro de grupos	,059	10	,006		
Total	3,874	14			

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

- **Decisión**

En el suelo de los ensayos de crecimiento de la especie *Helianthus annuus* se comparó las medias de los valores de concentración de cromo VI reportados en la tierra de las macetas mediante la herramienta estadística ANOVA (Tabla 77-3) en donde se obtuvo un p-valor de 0 el mismo que fue menor a 0,05 por lo que se rechazó la hipótesis nula, así se dedujo que los tratamientos afectaron a la concentración de cromo VI en el suelo de cultivo, por lo que la

concentración de cromo hexavalente en el suelo de la presente investigación dependió de la dosis aplicada.

Posteriormente se realizó un análisis de Tukey para comprobar la existencia de diferencias significativas en todas las concentraciones.

**Tabla 78-3.** Análisis de Tukey de la concentración en el suelo especie *H. annuus*

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0 ppm	50 ppm	-1,27333*	,06265	,000	-1,4795	-1,0672
	100 ppm	-1,18333*	,06265	,000	-1,3895	-,9772
	200 ppm	-,84333*	,06265	,000	-1,0495	-,6372
	300 ppm	-1,39667*	,06265	,000	-1,6028	-1,1905
50 ppm	0 ppm	1,27333*	,06265	,000	1,0672	1,4795
	100 ppm	,09000	,06265	,620	-,1162	,2962
	200 ppm	,43000*	,06265	,000	,2238	,6362
	300 ppm	-,12333	,06265	,345	-,3295	,0828
100 ppm	0 ppm	1,18333*	,06265	,000	,9772	1,3895
	50 ppm	-,09000	,06265	,620	-,2962	,1162
	200 ppm	,34000*	,06265	,002	,1338	,5462
	300 ppm	-,21333*	,06265	,042	-,4195	-,0072
200 ppm	0 ppm	,84333*	,06265	,000	,6372	1,0495
	50 ppm	-,43000*	,06265	,000	-,6362	-,2238
	100 ppm	-,34000*	,06265	,002	-,5462	-,1338
	300 ppm	-,55333*	,06265	,000	-,7595	-,3472
300 ppm	0 ppm	1,39667*	,06265	,000	1,1905	1,6028
	50 ppm	,12333	,06265	,345	-,0828	,3295
	100 ppm	,21333*	,06265	,042	,0072	,4195
	200 ppm	,55333*	,06265	,000	,3472	,7595

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

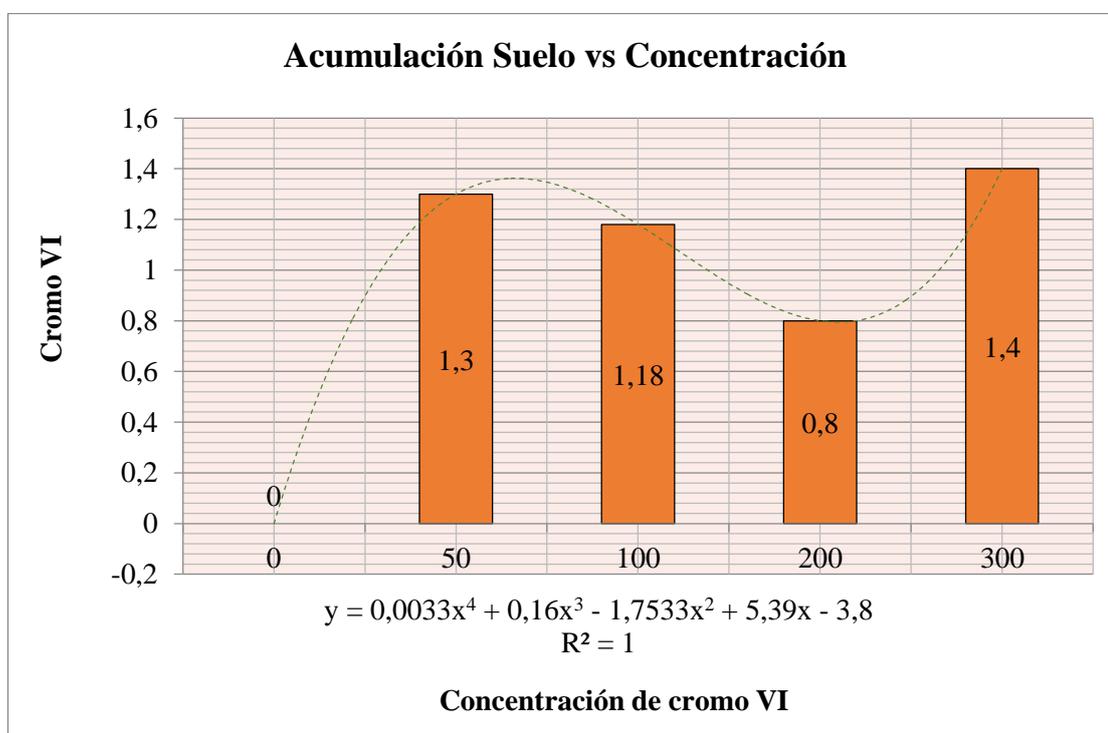
En la tabla 78-3, se observó que en las comparaciones correspondientes a los tratamientos Con 50- Con 100 y Con 50-Con 300, el p-valor es mayor que 0,05 por lo que en estos pares de tratamientos, la dosis no afectó a la concentración de cromo VI en el suelo, probablemente por la transformación de cromo VI en su forma reducida a cromo trivalente.

**Tabla 79-3.** Subconjuntos homogéneos Bioacumulación en flores especie: *H. annuus*.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
0 ppm	3	,0000			
200 ppm	3		,8433		
100 ppm	3			1,1833	
50 ppm	3			1,2733	1,2733
300 ppm	3				1,3967
Sig.		1,000	1,000	,620	,345

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 79-3 se comprobó lo dicho anteriormente acerca de la comparación entre los tratamientos Con 50- Con 100 y Con 50-Con 300, los cuales se encontraron formando los subconjuntos 3 y 4 respectivamente, mientras que los demás tratamientos mostraron una diferencia significativa de sus medias de concentración de cromo VI en el suelo por lo mismo formaron subconjuntos distintos.



**Gráfico 28-3.** Relación Concentración-Acumulación en el suelo especie *H. annuus*.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

El comportamiento de los datos de concentración de cromo VI en el suelo de los ensayos en macetas de la especie *H. annuus* sugiere una función cuártica, suave e inyectiva; esta fue una

tendencia creciente desde el tratamiento Con 0 hasta el tratamiento Con 100 que fue el resultado esperado teniendo en cuenta que a mayores dosis de cromo VI mayor presencia del metal estará biodisponible en el suelo para que sea absorbido por la planta (Ministerio de Agricultura de Chile, s.f), en el tratamiento Con 200 se observa un decremento en esta concentración dicho comportamiento se produjo probablemente a que en el suelo del ensayo de dicho tratamiento existió una mayor proporción de ácidos orgánicos que produce la reducción de cromo VI a cromo trivalente (Rangel A, et al., 2015), por lo que el reporte de laboratorio fue menor del esperado.

Se calcularon los máximos y mínimos de la función de cuarto orden observada en el gráfico 28-3 y se determinó que existió un mínimo valor de acumulación en el suelo que se dio en el tratamiento de Con 100 mientras que se obtuvieron dos valores máximos de bioacumulación de cromo VI en el rango de los tratamientos Con 50 y Con 100 mientras que el otro valor máximo se obtuvo en el tratamiento Con 300.

### 3.8.1.6. Factor de bioconcentración (FB).

A continuación se calcularon los factores de bioconcentración (FB) por cada tratamiento del ensayo obteniéndose la siguiente tabla resumen.

**Tabla 80-3.** Factores de bioconcentración (FB) de la especie *H. annuus*

Tratamientos	Cr6+ disponible en la biomasa aérea	Cr6+ disponible en el suelo	Factor de bioconcentración (FB)
Con 50	47,4	1,3	<b>36,46</b>
Con 100	38,3	1,18	<b>32,45</b>
Con 200	46,4	0,8	<b>58</b>
Con 300	51,6	1,4	<b>36,85</b>

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

El factor de bioconcentración se calculó en los tratamientos Con 50, Con 100 y Con 200 y en este caso si existieron datos para el tratamiento Con 300, lo que no sucedió con *Z. aethiopica*; al observar la tabla 80-3 obtuvimos que este factor no sigue una tendencia marcada, es decir que a mayores dosis el comportamiento de FB no fue creciente o decreciente; se mantiene en un valor aproximado a 36 en los tratamientos Con 50, Con 100 y Con 300, pero esto no sucedió en Con 200 cuyo valor de FB es el máximo alcanzando (FB=58), por lo que a dosis de 200 ppm de cromo VI la especie *H. annuus* tuvo mayor potencial fitorremediador, aunque en todos los

tratamientos *H. annuus* tiene este potencial, pues como se mencionó anteriormente, al ser el FB mayor a 20 se tradujo como una especie vegetal con potencial fitoextractor. (McGrath y Zhao 2003, citado en :Do Carmo L, 2013).

### 3.8.1.7. Factor de traslocación.

**Tabla 81-3.** Factores de traslocación (FT) especie *H. annuus*.

<b>Tratamientos</b>	<b>Cr6+ disponible en la biomasa aérea</b>	<b>Cr6+ disponible en la raíz</b>	<b>Factor de Translocación (FT)</b>
Con 50	47,4	8,3	<b>5,710843373</b>
Con 100	38,3	9,5	<b>4,031578947</b>
Con 200	46,4	12,3	<b>3,772357724</b>
Con 300	51,6	19,6	<b>2,632653061</b>

**Realizado por:** GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016.

Se calculó el factor de traslocación del cromo VI que se dió desde la raíz hacia los órganos aéreos de la planta en los cuatro tratamientos Con 50, Con 100, Con 200 y Con 300, al observar los datos de la tabla 81-3 se determinó que a mayores dosis el FT va disminuyendo, siendo en el tratamiento Con 50 que se obtuvo el valor máximo calculado el cual fue de 5,71 que fue mayor que 1 al igual que en todos los tratamientos por lo que se consideró como una especie apta para el transporte de cromo VI desde la raíz hacia los órganos aéreos por lo que existió una buena bioacumulación en los órganos aéreos. (Audet y Charest 2007; citado en: Medina K & Montano Y, 2014).

### 3.9. Análisis de Componentes Principales.

Posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) haciendo uso del software *SPSS*, el propósito de este análisis estadístico fue el de identificar los componentes que pueden ser considerados más importantes para explicar el potencial de bioacumulación de las especies en estudio, ya que se contó con una cantidad relativamente alta de factores, por lo que mediante el análisis ACP se discriminó aquellos factores cuya ausencia no afectó el resultado de bioacumulación por lo que al reducir el número de factores no se perdió información importante. (Bernal J, 2003).

Además con el método ACP se buscó obtener un índice general que relacionó todas las variables extraídas, resultando en una ecuación que explicó el potencial de bioacumulación en cada especie vegetal de la presente investigación.

### 3.9.1. ACP especie: *Helianthus annuus*.

Para el análisis estadístico mediante ACP se utilizó la siguiente tabla de datos.

**Tabla 82-3.** Resumen de los valores de bioacumulación en la especie *H. annuus*.

tratamientos	Repetición	Bioacumulación en la raíz (ppm)	Bioacumulación en el tallo (ppm)	Bioacumulación en las hojas (ppm)	Bioacumulación en las flores (ppm)	Bioacumulación en el suelo (ppm)
Con 0	r1	0,2	0,83	0,2	0,02	0
Con 0	r2	0,2	0,79	0,2	0,02	0
Con 0	r3	0,2	0,82	0,2	0,02	0
Con 50	r1	8,73	14,03	17,67	15,98	1,2
Con 50	r2	8,13	13,48	18,19	16,02	1,34
Con 50	r3	8,11	12,71	17,76	16,34	1,28
Con 100	r1	9,19	11,01	14,88	13,09	1,2
Con 100	r2	9,77	10,43	14,47	13,35	1,18
Con 100	r3	9,54	10,19	14,13	13,39	1,17
Con 200	r1	12,27	15,22	30,97	0	0,83
Con 200	r2	12,15	15,39	31,27	0	0,7
Con 200	r3	12,45	15,22	31,07	0	1
Con 300	r1	19,89	20,13	30,98	0	1,35
Con 300	r2	19,55	20,24	31,58	0	1,42
Con 300	r3	19,49	20,01	31,97	0	1,42

Realizado por: GUALLI, Cristian; MENA, Andrés, 2016

En la tabla 82-3 se presentó un resumen de todas las variables relacionadas con la Bioacumulación de cromo VI en la especie *H. annuus*, datos con los cuales se trabajó en el software SPSS para realizar el análisis de componentes principales.

**Tabla 83-3.** Comunalidades para cada una de las variables de la especie *H. annuus*.

Comunalidades		
	Inicial	Extracción
Tratamiento	1,000	,966
Continuación		

Bioconcentración_raíz	1,000	,978
Bioconcentración_tallo	1,000	,981
Bioconcentración_hojas	1,000	,937
Bioconcentración_flores	1,000	,992
Concentración_suelo	1,000	,985

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

Ya realizado el ACP se procedió a analizar los resultados del análisis arrojado por el software, la tabla de comunalidades (tabla 83-3) indicó en la segunda columna la variabilidad explicada de cada variable por todos los componentes principales antes de que sean extraídos, por lo que este valor siempre será 1, en la tercera columna se expresó el porcentaje de variabilidad explicado por los componentes principales considerados por el modelo del análisis ACP (UGR, s.f), en todos los casos el porcentaje fue mayor que 0,4 que se considera alto, por lo que los factores retenidos explicaron más del 90 % de las variables consideradas para este análisis.

**Tabla 84-3.** Varianza total en la extracción de componentes principales. Especie *H. annuus*

Varianza total explicada									
Componente	Autovalores iniciales			Sumas de extracción de cargas al cuadrado			Sumas de rotación de cargas al cuadrado		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
1	4,465	63,786	63,786	4,465	63,786	63,786	4,458	63,689	63,689
2	1,374	19,622	83,407	1,374	19,622	83,407	1,378	19,688	83,377
3	1,001	14,296	97,703	1,001	14,296	97,703	1,003	14,326	97,703
4	,113	1,609	99,312						
5	,040	,577	99,889						
6	,007	,105	99,994						
7	,000	,006	100,000						

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla 84-3 se realizó una estimación de cuantos factores o componentes son los que fueron considerados para la extracción, es así que en la columna 2 correspondiente a los autovalores se tomaron en cuenta los valores mayores a 1 según el criterio de Kaiser, además este criterio se puede confirmar con el porcentaje de varianza acumulada en la extracción y en la rotación, como este valor fue mayor a 80% se consideró que el número de factores es suficiente. (Bernal J, 2003)

En el presente caso fueron tres componentes cuyo autovalor es mayor que 1, así mismo la variabilidad acumulada que se explicó mediante estos tres componentes fue mayor que 80 %, llegando a explicar una variabilidad de hasta 97,7%.

**Tabla 85-3.** Matriz de componente rotado mediante normalización Varimax.

	Componente		
	1	2	3
Tratamiento	,959	-,216	,005
Bioconcentración_raíz	,989	-,031	-,003
Bioconcentración_tallo	,983	,122	-,028
Bioconcentración_hojas	,963	-,094	,005
Bioconcentración_flores	-,111	,990	,000
Concentración_suelo	,810	,572	,046

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla 85-3 se encuentran representados el número de componentes ya determinados en la tabla 84-3 que fue de tres componentes, cada componente agrupó las variables necesarias para explicar el o los fenómeno en estudio, en la columna 1 se determinan las variables consideradas para este estudio en donde el tratamiento se refiere a la dosis de cromo VI aplicado a la planta, la bioconcentración de cada parte de la planta como su nombre lo indica (raíz, tallo, hojas, flores) y finalmente la concentración del metal disponible en el suelo al final del estudio.

En el presente caso se requirió explicar la bioacumulación total de la especie *H. annuus* por lo que al observar el componente uno, se visualizó un total de 5 variables que sobrepasaron a 0,5 (tratamiento, bioconcentración de la raíz, bioconcentración del tallo, bioconcentración de las hojas y concentración en el suelo) por lo que estas variables se consideraron para formar el componente principal 1 que explica la bioacumulación total de cromo VI.

**Tabla 86-3.** Matriz de coeficiente de puntuación de componente principal.

<b>Matriz de coeficiente de puntuación de componente</b>	
	Componente
	1
Tratamiento	,222
Bioconcentración_raíz	,223
Continuación	

Bioconcentración_tallo	,218
Bioconcentración_hojas	,220
Bioconcentración_flores	-,053
Concentración_suelo	,167

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

Ya establecidos las variables que forman parte del conjunto de componentes principales se obtuvo la tabla 86-3 en la cual se encuentran los coeficientes respectivos de cada variable, con estos coeficientes se procedió a elaborar un índice general que relacionó todas las variables extraídas como componentes principales para obtener el valor de bioacumulación total de la especie *H. annuus*.

*BATH*

$$\begin{aligned}
&= 0,222 X_1 \text{Tratamientos} + 0,223 X_2 \text{Bioconcentración de la raíz} \\
&+ 0,218 X_3 \text{Bioconcentración del tallo} \\
&+ 0,220 X_4 \text{Bioconcentración de las hojas} - 0,053 X_5 \text{Bioconcentración de las flores} \\
&+ 0,167 X_6 \text{Concentración del suelo}
\end{aligned}$$

En donde:

$BAT_H$  es la Bioacumulación total de *Helianthus annuus*,

$X_1$  corresponde a la variable Tratamientos

$X_2$  es la variable Bioconcentración de la raíz

$X_3$  se refiere a la variable Bioconcentración del tallo

$X_4$  se refiere a la variable Bioconcentración de las hojas

$X_5$  se refiere a la variable Bioconcentración de las flores

$X_6$  se refiere a la variable Concentración del suelo

### 3.9.2. ACP especie *Zantedeschia aethiopica*.

Para el análisis estadístico mediante ACP se utilizó la siguiente tabla de datos.

**Tabla 87-3.** Resumen de valores de bioacumulación en la especie *Z. aethiopica*

TRATA MI-ENTOS	Repetición	Bioacumulación en la raíz (ppm)	Bioacumulación en el tallo (ppm)	Bioacumulación en las hojas (ppm)	Bioacumulación en las flores (ppm)	Bioacumulación en el suelo (ppm)
Con 0	r1	,00	,00	,00	,00	0
Con 0	r2	,00	,00	,00	,00	0
Continuación						

Con 0	r3	,00	,00	,00	,00	0
Con 50	r1	10,67	11,16	26,36	15,54	1,27
Con 50	r2	10,03	11,04	26,44	15,97	1,28
Con 50	r3	10,25	11,23	26,40	15,88	1,19
Con 100	r1	10,39	10,42	29,21	12,32	1,43
Con 100	r2	10,41	10,31	29,21	12,51	1,37
Con 100	r3	10,68	10,51	29,43	12,87	1,4
Con 200	r1	15,17	15,32	30,26	,00	1,9
Con 200	r2	15,45	15,39	29,96	,00	1,95
Con 200	r3	15,32	15,32	29,98	,00	2
Con 300	r1	,00	,00	,00	,00	2,2
Con 300	r2	,00	,00	,00	,00	2,18
Con 300	r3	,00	,00	,00	,00	2,1

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla 87-3 se presentó un resumen de todas las variables relacionadas con la Bioacumulación de cromo VI en le especie *Z. aethiopica*, datos con los cuales se trabajó en el software *SPSS* para realizar el análisis de componentes principales.

**Tabla 88-3.** Comunalidades de las variables de la especie *Z. aethiopica*.

Comunalidades		
	Inicial	Extracción
Tratamiento	1,000	,980
Bioconcentración_raíz	1,000	,942
Bioconcentración_tallo	1,000	,951
Bioconcentración_hojas	1,000	,991
Bioconcentración_flores	1,000	,588
Concentración_suelo	1,000	,949

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla de comunalidades (tabla 88-3) el valor de interés se encontró en la tercera columna, como se apreció en todos los casos el porcentaje fue alto sobrepasando el valor 0.4 requerido, por lo que los factores retenidos por el modelo ACP explicaron más del 90 % de la variabilidad de las variables consideradas para este análisis, excepto en la variable Bioconcentración de flores que esta explicada un 58 % de su varianza, aun así el valor siguió siendo mayor que 0,4.

**Tabla 89-3.** Varianza total de la extracción de ACP especie *Z. aethiopica*

Varianza total explicada									
Com pone nte	Autovalores iniciales			Sumas de extracción de cargas al cuadrado			Sumas de rotación de cargas al cuadrado		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% varianza	% acumulado
1	3,43	49,0	49,01	3,43	49,012	49,012	3,32	47,473	47,4
2	1,97	28,1	77,15	1,97	28,140	77,152	2,07	29,677	77,1
3	1,00	14,2	91,43	1,00	14,286	91,438	1,00	14,288	91,4
4	,579	8,27	99,71						
5	,019	,277	99,99						
6	,000	,006	99,99						
7	,000	,003	100,0						

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla 89-3 se realizó una estimación de cuantos factores o componentes fueron considerados para la extracción, es así que en la columna 2 correspondiente a los autovalores se tomaron en cuenta los valores mayores a 1, los cuales fueron 3 componentes que explicaron una varianza acumulada de 91,43%.

**Tabla 90-3.** Matriz de componente rotado mediante normalización Varimax.

Matriz de componente rotado		
	Componente	
	1	2
Tratamiento	-,054	,989
Bioconcentración_raíz	,950	,198
Bioconcentración_tallo	,959	,178
Bioconcentración_hojas	,991	,091
Bioconcentración_flores	,674	-,364
Concentración_suelo	,245	,942

Realizado por: GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

En la tabla 90-3 se encuentran representados el número de componentes establecidos en el análisis anterior, en el presente caso solo se requirió explicar la variable bioacumulación total por lo que se observó el componente con el mayor número de variables que sobrepasen el valor de 0.5 siendo el componente número uno el que cumple este requisito, dichas variables mayores a 0,5 fueron: bioconcentración de la raíz, bioconcentración del tallo, bioconcentración de las hojas y bioconcentración de las flores; estas variables se consideran las componentes principales

para explicar la bioacumulación total de cromo VI en la especie *Z. aethiopica*; pero también se observa que en el componente dos tanto la variable Tratamiento como la Concentración en suelo tienen un valor mayor a 0,5 relacionándose tales variables al fenómeno de biodisponibilidad de cromo VI para la planta.

**Tabla 91-3.** Matriz de coeficiente de puntuación de componente principal.

<b>Matriz de coeficiente de puntuación de componente</b>	
	Componente
	1
Tratamiento	-,074
Bioconcentración_raíz	,281
Bioconcentración_tallo	,285
Bioconcentración_hojas	,300
Bioconcentración_flores	,229
Concentración_suelo	,021

**Realizado por:** GUALLI Cristian, MENA Andrés, 2016

Ya establecidas las variables que formaron parte del conjunto de componentes principales se obtuvo la tabla 91-3 en la cual se definieron los coeficientes respectivos de cada variable, con estos coeficientes se procedió a elaborar un índice general que relacionó todas las variables extraídas como componentes principales para obtener el valor de bioacumulación total de la especie *Z. aethiopica*.

$$\begin{aligned}
 BAT_z = & -0,074X_1 \text{Tratamientos} + 0,281 X_2 \text{Bioconcentración de la raíz} \\
 & + 0,285 X_3 \text{Bioconcentración del tallo} + 0,300 X_4 \text{Bioconcentración de las hojas} \\
 & + 0,229X_5 \text{Bioconcentración de las flores} + 0,021X_6 \text{Bioconcentración de las flores}
 \end{aligned}$$

**En donde:**

BAT<sub>z</sub> es la Bioacumulación total de *Zantedeschia aethiopica*.

X<sub>1</sub> se refiere a la variable Tratamientos

X<sub>2</sub> es la variable Bioconcentración de la raíz.

X<sub>3</sub> se refiere a la variable Bioconcentración del tallo.

X<sub>4</sub> se refiere a la variable Bioconcentración de las hojas.

X<sub>5</sub> se refiere a la variable Bioconcentración de las flores.

X<sub>6</sub> se refiere a la variable a la Concentración en el suelo de cromo VI

A continuación se enlistaron los resultados mas relevantes obtenidos en las etapas de germinación, crecimiento y bioacumulación de las especies *Zantedeschia aethiopica* y *Helianthus annuus*.

El valor del índice de toxicidad en la especie *Z. aethiopica* para el tratamiento Con 0 = 100% (no presentó fitotoxicidad), en el tratamiento Con 50 = 113,8% (fitotoxicidad); en el tratamiento Con 100 = 42,5% (alta toxicidad); en el tratamiento Con 200 = 13,8% (alta fitotoxicidad) y en el tratamiento Con 300 = 4,7% (alta fitotoxicidad). Para el resultado de la  $DL_{50}$  mediante el método gráfico de Litchfield-Wilcoxon fue de 146 ppm de cromo VI y mediante el método Probit de 139 ppm.

En la especie *Helianthus annuus* la determinación del índice de toxicidad en la etapa de germinación arrojó los siguientes resultados Con 0 = 100% (no presentó fitotoxicidad), en el tratamiento Con 50 = 69,4% (fitotoxicidad moderada); en el tratamiento Con 100 = 50.7% (moderda); en el tratamiento Con 200 = 15.2% (alta fitotoxicidad) y en el tratamiento Con 300 = 3.3% (alta fitotoxicidad). Para el resultado de la  $DL_{50}$  mediante el método gráfico de Litchfield-Wilcoxon fue de 165.15 ppm de cromo VI y mediante el método Probit de 164.2 ppm.

Para la etapa de crecimiento en la especie *Zantedeschia aethiopica*, el promedio del ancho foliar fue: para el tratamiento Con 0 = 7.3 cm, para el tratamiento Con 50 = 5.9 cm, para el tratamiento Con 100 = 2,07 cm, para el tratamiento Con 200 = 0,73 y para el tratamiento Con 300 = 0 cm; en estos valores se determinó que existieron diferencias significativas.

La altura promedio de la *Z. aethiopica* fue: para el tratamiento Con 0 = 51.3 cm, para el tratamiento Con 50 = 47.36 cm, para el tratamiento Con 100 = 30.26 cm, para el tratamiento Con 200 = 12.2 y para el tratamiento Con 300 = 0 cm; en estos valores se determinó que existieron diferencias significativas.

Para la especie *Helianthus annuus*, el promedio del ancho foliar fue: para el tratamiento Con 0 = 11.9 cm, para el tratamiento Con 50 = 12.9 cm, para el tratamiento Con 100 = 10 cm, para el tratamiento Con 200 = 4.3 y para el tratamiento Con 300 = 0.2 cm; en estos valores se determinó que existieron diferencias significativas.

La altura promedio de la especie *H. annuus* fue para el tratamiento Con 0 = 68.9, para el tratamiento Con 50 = 77.7 cm, para el tratamiento Con 100 = 44.57 cm, para el tratamiento Con 200 = 20.4 y para el tratamiento Con 300 = 6.06 cm; en estos valores se determinó que existieron diferencias significativas.

La bioacumulación al final de la investigación en la especie *Zantedeschia aethiopica* fue de 1,3 ppm para el tratamiento Con 0, en el tratamiento Con 50 = 63.6 ppm; en el tratamiento Con 100 = 62.8 ppm; en el tratamiento Con 200 = 60.7 y en Con 300 no existió bioacumulación.

En la especie *Helianthus annuus* la bioacumulación de cromo VI en los tratamientos fue de 1.2 ppm para Con 0, en Con 50 = 55.7 ppm; en el tratamiento Con 100 = 47.8 ppm; en Con 200 = 58.7 y en el tratamiento Con 300 = 71.2 ppm.

Con los valores de bioacumulación se pudo obtener el factor de bioconcentración promedio para la especie *Z. aethiopica* este valor fue de 34.5; y para la especie *H. annuus* de 40.94.

Se obtuvo el valor del factor de traslocación que para la especie *Z. aethiopica* fue de 4,37 y para la especie *H. annuus* fue de 4,03.

En el método estadístico ACP para la especie *Zantedeschia aethiopica* se obtuvo la ecuación que explica la Bioacumulación total de dicha especie, la ecuación fue:

$$\begin{aligned}
 BAT_Z = & \\
 & -0,074X_1 \text{Tratamientos} + 0,281 X_2 \text{Bioconcentración de la raíz} + \\
 & 0,285 X_3 \text{Bioconcentración del tallo} + 0,300 X_4 \text{Bioconcentración de las hojas} + \\
 & 0,229X_5 \text{Bioconcentración de las flores} + 0,021X_6 \text{Bioconcentración de las flores.}
 \end{aligned}$$

El modelo estadístico determinado en la especie *Helianthus annuus* por el ACP fue:

$$\begin{aligned}
 BAT_H & \\
 = & 0,222 X_1 \text{Tratamientos} + 0,223 X_2 \text{Bioconcentración de la raíz} \\
 & + 0,218 X_3 \text{Bioconcentración del tallo} \\
 & + 0,220X_4 \text{Bioconcentración de las hojas} - 0,053X_5 \text{Bioconcentración de las flores} \\
 & + 0,167X_6 \text{Concentración del suelo}
 \end{aligned}$$

## CONCLUSIONES

- Se determinaron los índices de germinación en ambas especies; para la *Zantedeschia aethiopica* este índice indicó una alta fitotoxicidad a partir de la concentración de 100 ppm, mientras que en *Helianthus annuus* la fitotoxicidad se presentó a partir del tratamiento de 50 ppm, por lo que se considera al “girasol” como la especie más sensible frente a los efectos del cromo VI en la germinación.
- Se calcularon las dosis letales de inhibición del 50% ( $DL_{50}$ ), obteniéndose que para la especie *Zantedeschia aethiopica* fue de 132 ppm de cromo VI y en *Helianthus annuus* de 164 en la etapa de germinación lo cual permitió establecer límites de tolerancia para cada una de las especies.
- Se determinó el porcentaje de disminución en la altura de la planta como efecto de la toxicidad del cromo VI, resultando que para *Zantedeschia aethiopica* el porcentaje de disminución en la altura en el tratamiento Con 50 fue de 7.68%, en el tratamiento Con 100 de 41.01%, en el tratamiento Con 200 de 76.2% y en el tratamiento Con 300 de 100% ; para la especie *Helianthus annuus* los porcentajes de disminución en la altura de la planta fueron: en el tratamiento Con 50 se evidenció un crecimiento del 12.77% respecto al control, en el tratamiento Con 100 disminuyó en un 35.31%, en el tratamiento Con 200 la disminución fue de 70.39% y en el tratamiento Con 300 de 91,20%; con estos valores se define que la especie *Helianthus annuus* se desarrolla de manera mas eficaz en un ambiente contaminado con cromo VI.
- En la especie *Zantedeschia aethiopica* se observó un comportamiento bifásico, asimilable al fenómeno de hormesis, con una fase de exaltación en la longuitud radicular (LR) a bajas dosis del tóxico y otra fase en la que se manifiestan efectos fitotóxicos en los tratamientos con las mayores concentraciones ensayadas.
- Tanto la *Zantedeschia aethiopica* como *Helianthus annuus* obtuvieron valores de FB y FT mayores al indicador según bibliografía consultada por lo que se consideran plantas fitorremediadoras por su potencial de fitoextracción de cromo VI, debido su gran capacidad radicular y a las condiciones ambientales establecidas en la investigación.

- Mediante un ACP se determinó los componentes principales que explican la bioacumulación total de cada de una de las especies evaluadas y se propuso un modelo matemático con el fin de estimar este valor en las condiciones establecidas en la investigación.
- Se determinó un protocolo de bioensayos para evaluar los efectos tóxicos del contaminante cromo VI en las especies *Zantedeschia aethiopca* y *Helianthus annuus*, en el mismo se detallan las condiciones ambientales, las condiciones experimentales y las herramientas de evaluación de los efectos tóxicos, información necesaria para replicar el experimento y base para futuras investigaciones.

## RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos en parcelas en el campo para poder estudiar la dinámica de las plantas fuera de la maceta y en condiciones ambientales reales y comprobar si la interacción con otros factores puede modificar las respuestas de las especies.
- Debido a que es un estudio nuevo dentro de la institución se sugiere continuar la investigación a fin trabajar en la microscopia vegetal y perfeccionar la técnica de detección de cromo VI en las diferentes estructuras vegetales para lograr un mayor entendimiento de la dinámica del tóxico a nivel interno de la planta.

## BIBLIOGRAFÍA

**AGUILAR, Javier.** "El cultivo de girasol (*Helianthus annuus*) para flor cortada". *Flormarket* [en línea], 2001, (Murcia-España), 2(1), pp. 55-61. [Consulta: 28 enero 2017]. Disponible en: <http://www.bionica.info/biblioteca/Melgares%202001%20girasol.PDF>

**AIRAKI, Morad.** Función de las especies de oxígeno y nitrógeno reactivo (ros y rns) en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L) durante el desarrollo y en estrés por baja temperatura (Tesis) (Doctoral). Universidad de Granada, Granada-España 2012, pp. 15, [Consulta: 2016-12-14]. Disponible en: <http://hera.ugr.es/tesisugr/20745163.pdf>.

**ALBERT, Lilia.** *Capítulo 14: Cromo* [en línea]. BVSDE-PAHO, s.f. [Consulta: 2016-12-01]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/fulltext/toxico/toxico-03a14.pdf>

**ARAIZA J, et. al.** "Efecto de agentes quelantes sobre la dinámica de captación de plomo y cromo en plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.) cultivadas en un sistema hidropónico" [en línea]. México: IV Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica, Morelia-México COLMEX. 2006. [Consulta: 29 enero 2017]. Disponible en:

<http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/morelia/MEMORIAS%202006/TRABAJOS%20EN%20EXTENSO/E-372.pdf>

**BARCELÓ J, & POSCHENRIEDER Ch.** "Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados", *Researchgate* [en línea], 1992, (Barcelona-España), 2(1), pp. 345-361. [Consulta: 2016-12-05]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Juan\\_Barcelo/publication/285841974\\_Respuestas\\_de\\_las\\_plantas\\_a\\_la\\_contaminacion\\_por\\_metales\\_pesados/links/566806a908aef42b5788893d.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Juan_Barcelo/publication/285841974_Respuestas_de_las_plantas_a_la_contaminacion_por_metales_pesados/links/566806a908aef42b5788893d.pdf).

**BAUTISTA F.** *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados* [en línea], Yucatán-México: Universidad Autónoma de Yucatán, 1999, [Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/236954595\\_Introduccion\\_al\\_estudio\\_de\\_la\\_contaminacion\\_del\\_suelo\\_por\\_metales\\_pesados](https://www.researchgate.net/publication/236954595_Introduccion_al_estudio_de_la_contaminacion_del_suelo_por_metales_pesados)

**BELTRÁN Mayra, & GÓMEZ Alida.** "Biorremediación de Metales Pesados Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg), Mecanismos Bioquímicos e Ingeniería Genética: Una Revisión". *Revista Facultad Ciencias Básicas* [en línea], 2016, (Colombia), 12(2), pp. 172-197. [Consulta: 01 diciembre 2016]. ISSN 1900-4699. Disponible en: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2027>.

**BENEZER M, CASTRO E, & GARCÍA E.** "La Producción de Especies Reactivas de Oxígeno Durante la Expresión de la Resistencia a Enfermedades en Plantas". *Revista Scielo* [en línea], 2008, (México), 26(1). [Consulta: 07 diciembre 2016]. ISSN 2007-8080. Disponible en: Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092008000100009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100009)

**BOHÓRQUEZ P, & CAMPOS C.** "Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornutum* como indicadores de toxicidad en aguas". *Revista de la Facultad de Ciencias Universidad Javeriana* [en línea], 2007, (Bogotá-Colombia), 12(2), pp. 83-98, [Consulta: 12 diciembre 2016]. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4868/3748>.

**CALABRESE, Edward & BALDWIN, Linda.** "Hormesis: The Dose-Response". *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [en línea], 2003, (USA) Vol.43:1-656, pp. 175-197. [Consulta: 19 octubre 2016]. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.465.701&rep=rep1&type=pdf>.

**CASTILLO, M.G.** *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones.* México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004, pp.

**CONTRERAS Mauricio.** *Contaminación de cromo hexavalente en León* [en línea]. León-México: Universidad Autónoma de México. [Consulta: 10 enero 2016]. Disponible en: [http://enes.unam.mx/?lang=es\\_MX&cat=sostenibilidad&pl=contaminacion-de-cromo-hexavalente-en-leon](http://enes.unam.mx/?lang=es_MX&cat=sostenibilidad&pl=contaminacion-de-cromo-hexavalente-en-leon)

**DE LA TORRE A, ÑUÑOZ M, & CARBALLO M.** *Curso sobre Toxicología Ambiental y Seguridad Química. Evaluación Medioambiental. Evaluación Ecotoxicológica. Repercusión ambiental. Sanidad Ambiental* [en línea]. Murcia-España: CISA. [Consulta: 23 noviembre 2016]. Disponible en: <http://ritsq.org/wp-content/uploads/cd-toxamb/Documentos/10%20de%20la%20Torre%20FINAL.pdf>.

**DO CARMO Luis.** Efecto de la toxicidad del plomo en bioensayos con semillas y plantas (tesis) (licenciatura) [en línea]. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Buenos Aires-Argentina, 2003, pp. 23-25, 55, 85-89, 96, 112-121.

**EMINO, Everett R.; WARMAN, Phil R.** “Biological assay for compost quality”. *Compost Science & Utilization*, [en línea], 2004, (United State of America) 12(4) , pp. 342-348. [Consulta: 19 Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1065657X.2004.10702203>

**GALVAO, L.** *Cromo* [en línea]. Metepec-México: Organización Mundial de la Salud, 1987. [Consulta: 01 octubre 2016]. Disponible en: <bvsper.paho.org/bvsea/e/fulltext/cromo/cromo.pdf>

**GARCÍA Jorge, & MORENO Rafael.** *Resistencia de Euglena gracilis a cromo hexavalente. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería* [en línea]. México: SMBB, s.f.

[Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en:  
[http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_IV/Orales/OIV-20.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_IV/Orales/OIV-20.pdf)

**GARÓFALO Marcelo, & RAMÍREZ Juan.** "*Cinética Homogénea: Energía de Activación*". vol. 2 n° 1. Cali-Valle-Colombia: RECITEIA, 2002 pp. 15-37.

**GONZÁLEZ Bricia, et. al.** *Efecto de la aplicación del cromo en el crecimiento y producción de maíz (Zea mays). Presentado en V Congreso Internacional y XI Nacional de Ciencias Ambientales* [en línea]. Morelos- México: Red Ambientales. [Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en: [http://web.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-24.pdf](http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-24.pdf)

**GONZÁLEZ, D.** *Curso de Introducción a la Toxicología de la Contaminación del Aire* [en línea]. Lima-Perú: Instituto de Capacitación en la Contaminación del Aire, 2002. [Consulta: 28 noviembre 2016]. Disponible en: [www.bvsde.paho.org/cursoa\\_toxair/previos.pdf](http://www.bvsde.paho.org/cursoa_toxair/previos.pdf)

**GUTIÉRREZ L.R, et. al.** "Germinación del girasol silvestre (*Helianthus annuus L.*) en presencia de diferentes concentraciones de metales". *Revista Latinoamericana Biotecnología Ambiental Algal* [en línea], 2011, 2(1), pp. 49-56. [Consulta: 29 enero 2017]. Disponible en: <http://uniciencia.ambientalex.info/revistas/vol2n14.pdf>

**HELD Paul.** *An Introduction to Reactive Oxygen Species: Measurement of ROS in Cells* [en línea]. USA: Biotek, 2014. [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: <http://www.biotek.com/resources/articles/reactive-oxygen-species.html>

**HERNÁNDEZ Esmeralda.** Estudio de bioacumulación y efectos adversos del cromo, en dos especies de rotíferos dulceacuícolas (tesis) (maestría) [en línea]. Universidad Autónoma de

Aguascalientes, Aguascalientes, México, 2015. pp. 11-14. [Consulta: 14 diciembre 2016].  
Disponible en:

<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/395/402665.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**HERNÁNDEZ, J.** *Introducción a la Toxicología* [en línea]. Madrid-España: Dpto. Farmacología y Terapéutica, 2010. [Consulta: 06 diciembre 2016]. Disponible en: [https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim\\_L1.pdf](https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim_L1.pdf).

**IANNACONE J, CABALLERO C, & ALVARIÑO L.** "Empleo del caracol de agua dulce *Physa venustula Gould* como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas". *Agric. Tec. Revista Scielo* [en línea], 2002, (Lima-Perú), 62(2). [Consulta: 06 diciembre 2016]. ISSN 0365-2807. Disponible en <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072002000200004>

**LENOIR Christian, & TORNARI Gerardo.** *Contaminación y tratamiento de suelo* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: AES-DISAB, 2004. [Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.sustentabilidad.uai.edu.ar/pdf/ing/cont\\_y\\_tratam\\_suelos.pdf](http://www.sustentabilidad.uai.edu.ar/pdf/ing/cont_y_tratam_suelos.pdf).

**LÓPEZ C.** "Reacciones de hipersensibilidad en plantas cultivadas *in vitro*". *Encuentros en la Biología* [en línea], s.f, 1(1). [Consulta: 05 diciembre 2016]. ISSN 2254-0296. Disponible en: <http://www.encuentros.uma.es/encuentros26/26reacciones.html>

**MAESO D, & NÚÑEZ S.** *Avances en la evaluación del impacto de los plaguicidas en aguas de escurrimiento superficial, con énfasis en producciones intensivas* [en línea]. Uruguay: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 2015. [Consulta: 07 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20Las%20Brujas/Calidad%20de%20aguas/1%20Maeso.pdf>.

**MARY Salvador.** Efecto del cromo hexavalente (vi) en la germinación y crecimiento de plántulas de *Avena sativa L.* «avena» [en línea]. (tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú, 2014. pp. 39-41. [Consulta: 15 diciembre 2016]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNITRU/4364/Salvador%20Gamboa%2c%20Mary%20Elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**MEDINA Katy, & MONTANO Yeidi.** Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el *Juncus arcticus Willd.* y *Cortaderia rudiusscula Stapf*, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza - ANCASH 2013 [en línea] (tesis) (Ingeniería). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Huaraz-Ancash-Perú. 2014. [Consulta: 25 enero 2017]. Disponible en:

[http://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user\\_upload/p\\_biorem/education/research/publications/Theses/Tesis\\_Medina\\_y\\_Montano\\_2014.pdf](http://biorem.univie.ac.at/fileadmin/user_upload/p_biorem/education/research/publications/Theses/Tesis_Medina_y_Montano_2014.pdf)

**MENCÍAS RODRÍGUEZ, Emilio & MAYERO FRANCO, Luís,** *Manual de Toxicología Básica.* Madrid-España: Díaz de Santos, 2000, pp.631-632

**Ministerio de Agricultura de Chile.** *Metales pesados en los cultivos* [en línea]. Chile: Servicio Agrícola y Ganadero SAG. s.f. [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: [http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio\\_ambiente/criterios\\_calidad\\_suelos\\_aguas\\_agricolas/pdf\\_suelos/6\\_metales\\_pesados\\_cultivos.pdf](http://biblioteca-digital.sag.gob.cl/documentos/medio_ambiente/criterios_calidad_suelos_aguas_agricolas/pdf_suelos/6_metales_pesados_cultivos.pdf)

**MONTOYA Willy, PEÑA Enrique, & TORRES Gerardo.** "Variaciones ultraestructurales inducidas por Cromo (VI) en hojas de jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*)", *Asociación Ibérica de Limnología-Limnetica* [en línea], 2015, (España) 34(1), pp. 85-94. [Consulta: 29 enero 2017]. ISSN 0213-8409. Disponible en:

[http://limnetica.com/Limnetica/Limne34/L34a085\\_Danos\\_ultraestructurales\\_Eichhornia\\_crassipes.pdf](http://limnetica.com/Limnetica/Limne34/L34a085_Danos_ultraestructurales_Eichhornia_crassipes.pdf)

**Murcia F.** *Caracterización del contenido de cromo, su disponibilidad y sus interacciones con las propiedades del suelo para evaluar el potencial uso de la fitoextracción* [en línea]. España: Congreso Nacional del Medio Ambiente CONAMA. 2014. [Consulta: 12 diciembre 2016]. Disponible en:

<http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/conama2014/CT%202014/1896711835.pdf>

**NAVARRO-AVIÑO J.P, AGUILAR Alonso I, & LÓPEZ-MOYA J.R.** "Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas", *Revista Ecosistemas* [en línea]. (Valencia-España), 16(2), pp. 10-25. [Consulta: 23 noviembre 2016]. ISSN 1697-2473. Disponible en:

<http://revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/125>.

**ORTEGA Natalia.** Fitorremediación de suelo contaminado por plomo (pb), cadmio (cd) y arsenico (as), mediante la especie vegetal nicotina glauca g. (tesis) (Ingeniería) [en línea]. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón Coahuila-México. 2009. pp. 11-13 [Consulta: 20 diciembre 2016]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2573/NATALIA%20ORTEGA%20MORALES.pdf?sequence=1>

**POSADA Raúl.** *Procesos de bioremediación* [en línea]. Colombia: Universidad nacional abierta y a distancia-UNAD Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. 2012. [Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358025/Modulo\\_FINAL\\_358025.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358025/Modulo_FINAL_358025.pdf)

**PRIETO J.** "Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelo y agua". *Journal of Tropical and Subtropical Agrosystems* [en línea], 2009, (México), 10(1), pp. 29-44. [Consulta: 23 noviembre 2016]. ISSN 93911243003. Disponible en: <http://uniciencia.ambientalex.info/revistas/vol2n14.pdf>.

**QUEZADA R, & VARELA E.** *Remediación natural para completar la depuración del cromo (VI) en efluentes de curtiembres* [en línea]. Argentina: edUTecNe. s.f. [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: [http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal\\_frvm/CyTAL\\_2012/TF/TF020.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal_frvm/CyTAL_2012/TF/TF020.pdf).

**QUIJIJE Liz.** *Curtiembres una problemática que afecta al ambiente* [blog]. 26 junio, 2013. [Consulta: 10 enero 2017]. Disponible en: <http://lizquijije505.blogspot.com/>

**RAMIREZ ROMERO, Patricia; & MENDOZA CANTU, Ania.** *Ensayos Toxicológicos para la Evaluación de Sustancias Químicas en agua y suelo*. Tlalpan-México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2008, pp. 39-40

**RANGEL Agustín, CHÁVEZ Eloy, & MALDONADO María.** "Caracterización y recuperación de sales de cromo hexavalente de un pasivo ambiental". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* [en línea], 2015, 31(4). [Consulta: 10 noviembre 2017]. ISSN 0188-4999. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992015000400010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992015000400010)

**REPETTO JIMENEZ, Manuel & REPETTO KUHN, Guillermo,** *Toxicología Fundamental*. 4ª ed. Sevilla-España: Díaz de Santos, 2009, pp. 21

**Resumen de Salud Pública: Cromo** [en línea]. Departamento de salud y servicios humanos de los EE.UU., Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. [Consulta: 20 octubre 2016]. Disponible en: [www.atsdr.cdc.gov/es](http://www.atsdr.cdc.gov/es)

**STELLMAN, J.M.** *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo* [en línea]. Madrid-España: Chantal Dufresne BA, 2012. [Consulta: 11 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.1f1a3bc79ab34c578c2e8884060961ca/?vgnextoi>

d=a981ceffc39a5110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD&vgnnextchannel=9f164a7f8a651110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD

**SUÁREZ A, et. al.** "Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas". *Revista Mutis* [en línea], 2014, (Colombia), 4(1), pp. 8-14. [Consulta: 07 diciembre 2016]. ISSN: 2256-1498. Disponible en: <http://revistas.utadeo.edu.co/index.php/mutis/article/view/905/945>.

**SUÁREZ A, & AGUDELO R.** "Tratamiento de agua residual procedente de la industria de curtiembres mediante humedales subsuperficiales usando *Zantedeschia Aethiopica*". *Revista Avances* [en línea], 2014, (Colombia), 11(2), pp. 121-126. [Consulta: 11 diciembre 2016]. ISSN: 1794-4953(2014). Disponible en: <http://www.unilibre.edu.co/revistaavances/avances-11/art6.pdf>.

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA.** *Calla Blanca o Cartucho de los pantanos*. Colombia: UNAD, s.f. [Consulta: 28 enero 2017]. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/302568/Material\\_didactico\\_definitivo/leccin\\_19cultivo\\_de\\_callas.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/302568/Material_didactico_definitivo/leccin_19cultivo_de_callas.html)

**VILLALBA Yanina.** Efectos ecotoxicológicos del plomo sobre la germinación y el crecimiento de plantas vasculares (tesis) (licenciatura) [en línea]. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía. (Buenos Aires-Argentina). 2014. pp. 55-65,80.

## ANEXOS

### ANEXO A. Ubicación del invernadero de la investigación.



Fuente: Google Earth, 2016

**ANEXO B.** Condiciones recomendadas para ensayos de Toxicidad aguda para la especie *Zantedeschia aethiopica*

<b>PROTOCOLO DE ENSAYO: <i>Zantedeschia aethiopica</i></b>		
<b>Condición</b>	<b>Recomendación</b>	<b>Observación</b>
<b>Tipo de ensayo</b>	Estático	
<b>Temperatura</b>	23 ± 2 °C	
<b>Luz</b>	Oscuridad Etapa Germinación Natural Etapa de Crecimiento	
<b>Tóxico empleado</b>	Cromo VI (Cr <sup>+6</sup> )	Se utilizó en forma de Dicromato de Potasio KCrO
<b>Concentraciones</b>	0 ppm 50 ppm 100 ppm 200 ppm 300 ppm	
<b>Volumen de solución</b>	4 mL Etapa Germinación 1 L/Día Etapa de Crecimiento	
<b>Agua de disolución</b>	Agua destilada	
<b>Duración del ensayo</b>	168 horas Etapa Germinación 240 días Etapa de Crecimiento	
<b>Control Positivo</b>	300 ppm	Concentración de 300 ppm de Cr (VI) a partir de K CrO
<b>Control Negativo</b>	<b>0 ppm</b>	Concentración de 0 ppm de Cr (VI) a partir de agua destilada.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

**ANEXO C.** Condiciones recomendadas para ensayos de Toxicidad aguda para la especie *Helianthus annuus*

<b>PROTOCOLO DE ENSAYO: <i>Helianthus annuus</i></b>		
<b>Condición</b>	<b>Recomendación</b>	<b>Observación</b>
<b>Tipo de ensayo</b>	Estático	
<b>Temperatura</b>	23 ± 2 °C	
<b>Luz</b>	Oscuridad Etapa Germinación Natural Etapa de Crecimiento	
<b>Tóxico empleado</b>	Cromo VI (Cr <sup>+6</sup> )	Se utilizó en forma de Dicromato de Potasio KCrO
<b>Concentraciones</b>	0 ppm 50 ppm 100 ppm 200 ppm 300 ppm	
<b>Volumen de solución</b>	4 mL Etapa Germinación 1 L/Día Etapa de Crecimiento	
<b>Agua de disolución</b>	Agua destilada	
<b>Duración del ensayo</b>	168 horas Etapa Germinación 180 días Etapa de Crecimiento	
<b>Control Positivo</b>	300 ppm	Concentración de 300 ppm de Cr (VI) a partir de K CrO
<b>Control Negativo</b>	<b>0 ppm</b>	Concentración de 0 ppm de Cr (VI) a partir de agua destilada.

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

ANEXO D. Semillas de la especie: *Zantedeschia aethiopica* a los 16 días de su germinación.



Semillas utilizadas en experimento con concentración 0 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 50 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 100 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 200 ppm

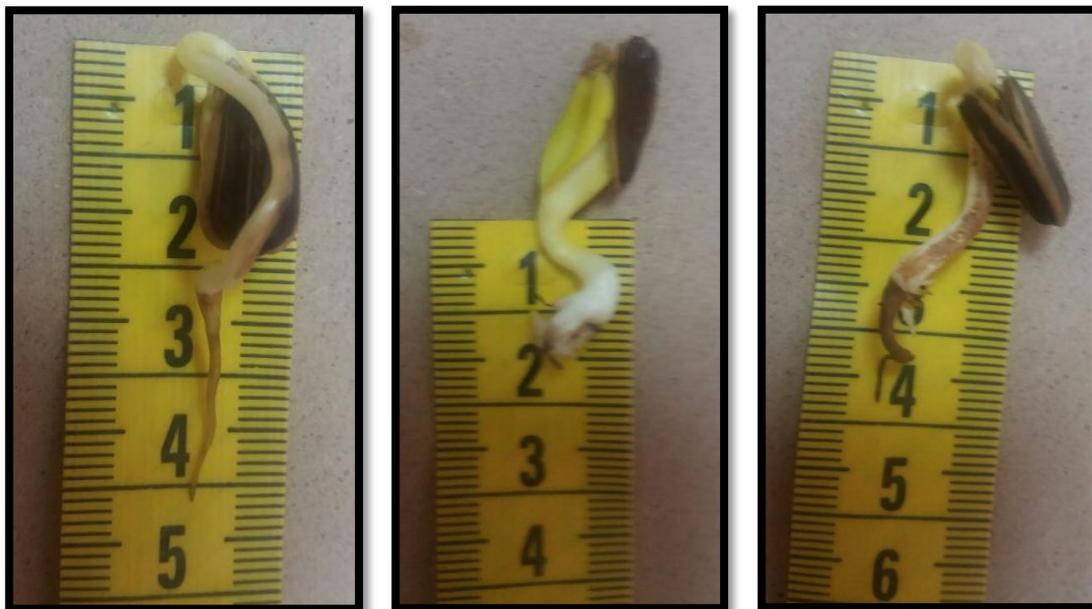


Semillas utilizadas en experimento con concentración 300 ppm

ANEXO E. Semillas de la especie: *Helianthus annuus* a los 16 días de su germinación.



Semillas utilizadas en experimento con concentración 0 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 50 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 100 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 200 ppm



Semillas utilizadas en experimento con concentración 300 ppm

**ANEXO F.** Registro de la altura especie *Zantedeschia aethiopica*

<b>Concetració</b>	<b>Repetició</b>	<b>Semana 3 (cm)</b>	<b>Semana 6 (cm)</b>	<b>Semana 9 (cm)</b>	<b>Semana 12 (cm)</b>	<b>Semana 15 (cm)</b>	<b>Semana 20 (cm)</b>
<b>Con 0</b>	E1	8,1	16,7	24,1	31	48,1	55,0
	E2	7,2	18,3	26,0	30,8	46,3	53,7
	E3	7,5	19,7	23,9	37,7	45,4	52,6
<b>Con 50</b>	E1	6,7	14,3	19,4	26,3	38,9	47,7
	E2	7,8	15,9	20,3	25,1	34,4	48,4
	E3	5,7	16,0	21,4	29,9	36,0	46,0
<b>Con 100</b>	E1	3,6	11,4	17,7	24,9	28,1	31,4
	E2	5,1	12,4	16,9	23,4	27,2	30,4
	E3	5,0	14,4	19,3	24,8	26,7	29,0
<b>Con 200</b>	E1	2,4	8,4	9,2	9,7	10,0	10,0
	E2	3,0	7,1	10,0	11,4	14,0	14,7
	E3	3,1	5,2	10,0	10,8	11,4	11,9
<b>Con 300</b>	E1	1,2	1,1	0,3	0	0	0
	E2	2,0	1,9	0,6	0	0	0
	E3	1,4	1,5	1,1	0,8	0	0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

**ANEXO G.** Registro de la altura planta *Helianthus annuus*

<b>Concetració</b>	<b>Repetició</b>	<b>Semana 3 (cm)</b>	<b>Semana 6 (cm)</b>	<b>Semana 9 (cm)</b>	<b>Semana 12 (cm)</b>	<b>Semana 15 (cm)</b>	<b>Semana 20 (cm)</b>
<b>Con 0</b>	E1	11,1	21,0	34,1	49,3	65,7	73,1
	E2	13,3	23,8	33,5	41,9	51,1	64,0
	E3	12,1	25,9	31,7	39,7	51,1	69,5
<b>Con 50</b>	E1	13,0	25,4	34,6	48,4	67,9	75,0
	E2	15,8	28,3	39,1	51,7	69,7	78,4
	E3	14,1	25,4	35,0	50,9	62,7	79,9
<b>Con 100</b>	E1	10,7	18,5	24,1	28,8	39,0	41,0
	E2	9,8	19,0	21,1	29,4	35,9	43,4
	E3	12,4	17,1	23,7	26,1	32,1	49,3
<b>Con 200</b>	E1	5,2	8,1	9,3	13,7	16,4	19,6
	E2	6,0	7,3	10,4	14,0	16,7	21,6
	E3	5,1	9,3	10,7	12,9	14	20
<b>Con 300</b>	E1	3,5	5,1	5,1	6,4	6,7	8,9
	E2	2,8	4,6	5,4	6,6	7,4	9,3
	E3	3,1	4,4	0	0	0	0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

**ANEXO H.** Registro del ancho foliar de la especie *Zantedeschia aethiopica*

		<b>Semana 3</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	C2	C3	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	2,5	2,9	1,1	0,8	0,8
	E2	3,1	2,7	1,8	0,8	0,7
	E3	2,8	2,1	1,1	1,3	0,9

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 6</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	C2	C3	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	4,1	3,8	3,5	1,0	0,9
	E2	4,0	3,4	2,5	1,5	0,7
	E3	4,9	3,4	1,4	1,4	0,9

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 9</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	C2	C3	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	4,8	4,9	3,2	1,0	0,0
	E2	4,0	4,7	2,5	1,5	0,6
	E3	4,8	4,1	2,0	0,0	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 12</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	5,6	5,5	3,0	1,0	0,0
	E2	5,1	6,0	4,0	1,1	0,5
	E3	5,4	6,2	4,1	0,0	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 15</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	6,5	6,8	3,4	1,0	0,0
	E2	6,7	6,2	4,2	1,2	0,0
	E3	6,6	6,9	3,3	0,0	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 20</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	7,6	5,6	2,4	1,2	0,0
	E2	7,2	5,4	1,8	1,7	0,0
	E3	6,6	6,7	2,0	0,5	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

**ANEXO I.** Registro del ancho foliar de la especie *Helianthus annuus*

		<b>Semana 3</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	3,5	3,6	2,1	1,9	0,8
	E2	3,2	3,4	2,0	1,1	0,9
	E3	2,6	2,7	2,3	0,5	0,6

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 6</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	4,5	4,9	3,0	2,8	0,9
	E2	4,7	4,1	4,1	2,1	1,0
	E3	4,6	3,8	3,8	1,0	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 9</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	5,8	5,9	5,2	2,1	0,0
	E2	7,1	7,0	5,5	2,0	0,5
	E3	5,8	7,2	7,0	1,9	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 12</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	7,8	7,9	6,2	2,6	0,0
	E2	8,1	9,7	6,5	2,8	0,7
	E3	6,8	9,1	8,0	2,4	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 15</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	9,8	9,9	8,2	3,6	0,0
	E2	10,1	10,7	8,5	3,8	0,7
	E3	8,8	11,1	10,0	3,3	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016

		<b>Semana 20</b>				
		<b>(cm)</b>				
		CON 0	CON 50	CON 100	CON 200	C5
<b>Repeticiones</b>	E1	11,8	12,9	9,1	5,8	0,0
	E2	12,1	12,7	10,8	3,8	0,6
	E3	11,8	13,1	10,1	3,3	0,0

Realizado por: GUALLI, Cristian ; MENA, Andrés, 2016