

INTRODUCCIÓN

Los suelos forman un pilar fundamental para la formación de la vida en general, son la base del sustento de las especies incluyendo el hombre aunque en los últimos años este se ha visto en la tarea de deteriorarlo y modificarlo adaptándolo a su estilo de vida, formando edificaciones, amplios complejos y gran variedad de industrias.

La industria metalúrgica forma parte de ese amplio grupo de contaminantes del suelo, ya que sus desechos provoca disturbios en el medio ambiente y genera a los suelos limitaciones físicas, químicas y biológicas para el establecimiento de la vegetación y riesgos a la salud (Sosa *et al.* 2006). Incrementando las cantidades de algunos metales como el plomo, hierro, cromo y otros en el suelo puesto que estos se emplean como aleaciones o componentes de moldes durante el proceso productivo.

Anteriormente se empleaban tratamientos físicos y químicos en el estudio de los suelos, hoy en día se emplean bioensayos como indicadores de contaminación ya que son una forma directa de ver como se afecta el suelo y los organismos que él se desarrollan.

Es por ello, que en el presente trabajo de investigación se plantea la evaluación del impacto de las industrias en el suelo por medio de bioensayos, específicamente en una industria de fundición de acero, cuya actividad se realizó durante un largo periodo de tiempo y al culminar quedaron los suelos aledaños en desuso y en contacto con la escoria provenientes de la misma, siendo contaminados por la presencia y descomposición de estos residuos.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

El presente capítulo describe el problema así como los objetivos, tanto general como específicos planteados para llevar a cabo la resolución coherente de la problemática, además se dan a conocer los parámetros que definieron y justificaron la presente investigación.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los suelos constituyen uno de los fundamentos de la vida, ya que proporcionan hábitat, sostén y alimentos a muchas especies, interviniendo en el ciclo del agua y los ciclos de los elementos, dando lugar a gran parte de las transformaciones de la energía y de la materia de los ecosistemas. La mayoría de las actividades humanas los involucran de una u otra forma. Sin embargo, muchas de ellas deterioran los suelos, alteran su calidad, e incluso los inhabilitan para su uso.

Además, como su regeneración es muy lenta, el suelo debe considerarse como un recurso no renovable y cada vez más escaso, debido a que está sometido a constantes procesos de degradación y destrucción.

Un suelo se puede degradar al acumularse en él sustancias a unos niveles tales que repercuten negativamente en el comportamiento de los mismos, este el caso de suelos con presencia elevada de metales pesados considerándose tóxicos para los organismos presentes, afectando las funciones agrícolas y ecológicas.

Los metales que llegan al suelo pueden provenir de diversas fuentes naturales, sin embargo, con el crecimiento de la población surgen las industrias y a su vez entre ellas se encuentra la industria metalúrgica que por una parte provee un impacto positivo sobre la economía del sector donde se desarrolla pero por otra es una fuente considerable de contaminación para el agua, aire y suelos.

Se han realizados estudios de la germinación de semillas y alargamiento de la raíz para evaluar la toxicidad de suelos contaminados (Visser y Danielson, 1995). Entre ellos las la lechuga pueden ser utilizadas como bioindicadoras de la contaminación del suelo ya que son mas sensibles que las gramíneas y cepaceas a la exposición de sustancias contaminantes, y tienen los índices mas altos de fitotoxicidad por efecto de la toxicidad aguda (Rivera y Trujillo, 2004).

En el presente trabajo de investigación se propuso estudiar la toxicidad de un suelo impactado por la actividad metalúrgica mediante la determinación de metales disponibles y fitotoxicidad por la comparación de los lixiviados con la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) y rabanito (*Raphanus sativus*).

El área de objeto de estudio se encontró dentro de una industria de fundición de aceros, cuya actividad se realizó por un periodo de 22 años y el impacto en el suelo fue ocasionado por la deposición de residuos metalúrgicos como la escoria y arena de sílice, que contienen algunos metales pesados y sales inorgánicas que pueden afectar las condiciones originales del suelo. (Duran 2011)

1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la toxicidad de suelos impactados por la actividad metalúrgica mediante cuantificación de metales pesados y fitotoxicidad por la comparación de los lixiviados con la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) y rabanito (*Raphanus sativus*).

1.2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Cuantificar la cantidad de metales disponibles tales como Cr, Pb, Co, Fe, Mo, Zn y Ni, en las muestras de suelos, empleando como método Absorción Atómica a la llama (AA).
- Realizar bioensayos con semillas de lechuga y rabanito a fin de seleccionar la más adecuada para determinar los niveles de toxicidad de la muestra a estudiar.
- Comparar la evolución del bioensayo seleccionado en sistemas de control negativo y con extractos de lixiviados de los suelos impactados por la actividad metalúrgica.
- Establecer el índice de toxicidad del suelo por medio de la germinación de semillas.
- Determinar la correlación que existe entre índice de germinación y la cantidad de metales disponibles en las muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.
- Comparar el contenido de metales disponibles en las muestras de suelo con la cantidad máxima permisible en las normativas ambientales nacionales e internacionales.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Los suelos permiten que las formaciones vegetales y los cultivos se fijen con sus raíces y así busquen los nutrientes que requieren para vivir. El hombre obtiene del suelo no sólo la mayor parte de los alimentos, sino también fibras, maderas y otras materias primas por lo que su preservación es de vital importancia para todos los seres que en él se desarrollan.

Por su parte, la industria metalúrgica es ciertamente una de las menos limpias para el ecosistema en general, pero al analizar el impacto de la contaminación sobre el suelo, se obtendrá un conocimiento real sobre el efecto de la lixiviación de metales pesados en el mismo y su impacto sobre los microorganismos.

Este último aspecto es de relevancia ya que la zona de estudio se encontraba rodeada de centros poblados que pudiesen darle una mejor disposición a los suelos a futuro.

La aplicación de bioensayos es de importancia ya que nos permite conocer como se ven afectados directamente las plantas u otras especies en contacto con los contaminantes que se encuentren en el suelo.

Finalmente al cuantificar la cantidad de metales disponibles y realizar ensayos en semillas de lechuga y rabanito con los lixiviados de los suelos se puede evaluar cuan tóxicos son dichos suelos para fines productivo, comerciales, agrícolas entre otros.

1.4. DELIMITACIÓN

La cuantificación de metales pesados y comparación de los lixiviados por ensayos con semillas de lechuga y rabanito, estuvo destinado a evaluar la toxicidad de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

El sistema elegido para la recolección de muestras fue un área de 7,2 Ha pertenecientes a una industria inactiva que operó durante 22 años, dedicada a la fundición de aceros.

La empresa paralizó sus actividades en diciembre del año 2002 y hasta la actualidad no se ha asignado ninguna otra actividad económica en ese espacio. El área total se encontraba dividida en ocho parcelas, de las cuales el área de producción ocupaba 2 Ha. Existían dos zonas de tamaño indefinido fuera del área de producción, donde se depositaban los desechos de producción y arena de sílice, a la intemperie.

El espacio de estudio se encontró ubicado en el parcelamiento industrial de la ciudad de Tinaquillo en el estado Cojedes, con frente a la calle H y entrada a la altura de la calle G. El parcelamiento industrial está ubicado al norte de la ciudad antes mencionada, sobre la margen izquierda de la autopista nacional José Antonio Páez.

Desde la paralización de la actividad de esta industria, el área residencial ubicada detrás de la empresa; que tiene por nombre barrio la Floresta; se ha visto en crecimiento, abarcando parte del parcelamiento industrial. La realización de este proyecto se llevó a cabo con el consentimiento de la Asociación Cooperativa Aceros Moldeados Tinaquillo RL, quienes tienen el terreno en custodia actualmente. (Duran, 2011).

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES

Determinación del impacto de la actividad metalúrgica sobre las propiedades física, químicas y biológicas del suelo (Duran, 2011).

Este trabajo de investigación tuvo como principal objetivo determinar impacto generado por la industria metalúrgica sobre algunas de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, en Tinaquillo estado Cojedes.

Entre las propiedades determinadas se encuentran el pH, capacidad de intercambio catiónico, conductividad eléctrica, carbono total, textura, humedad y otras, comparando los suelos impactados con los que no lo estaban. Los resultados obtenidos de la investigación arrojaron que en general todas las zonas evaluadas se vieron afectadas por la actividad metalúrgica variando en mayor o menor proporción los parámetros estudiados en comparación con las muestras control.

Este trabajo es de importancia ya que es la continuación de esta investigación, empleando las mismas muestras de Duran en 2011 pero determinando el contenido de metales y la toxicidad de los suelos por la germinación con semillas de lechuga y rábano.

Evaluación preliminar de metales en muestras de suelos impactados por derrames de crudo, en la zona de Yaracal-Estado Falcón (Noguera, 2010).

Este trabajo de investigación tuvo como principal objetivo evaluar la presencia de metales en suelos y determinar su relación con la concentración de crudo presente, en la zona impactada por derrame de petróleo de Yaracal. Estado Falcón.

Entre los metales evaluados en las zonas muestreadas se encontraban los totales y los disponibles como Cr, Cd, Co, Fe, Mo, Mn, Zn, Ni y Cu por el método de absorción atómica a la llama (AA) y a su vez se efectuó una correlación de los metales presentes con las concentraciones de crudo determinadas. Los resultados obtenidos de esta investigación en cuanto al contenido de metales en suelos contaminados con crudo indicaron que Ni, Cr y Cd se encontraron fuera de los límites permisibles por el Real Decreto de España, lo que pudiese ser indicativo de toxicidad en las muestras y una correlación estadística indirecta con el contenido de Cd total lo que sugiere acumulación de este metal en el suelo impactado con petróleo.

La investigación de Noguera es de importancia ya que plantea la metodología de ensayo empleado para la determinación de metales disponibles por (Absorción Atómica a la Llama) y comparar los valores obtenidos con los reportados en el trabajo y con los niveles máximos permisibles según el Real Decreto de España y las normativas venezolanas.

Evaluación de los niveles de toxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburo liviano ubicado en la zona de Yaracal- Edo Falcón (Aguilar y Bustillo, 2011).

Esta investigación tuvo como objetivo principal evaluar los niveles de toxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburo liviano.

Entre los métodos empleados para determinar la toxicidad del suelo se encontró el aplicado a semillas de lechuga y rabanito, donde una parte del lixiviado se colocó en contacto con las semillas, se evaluó su germinación y porcentaje de crecimiento de las partes de la plántula.

Los resultados obtenidos de la investigación arrojaron que el índice de germinación a las concentraciones evaluadas ratifica los niveles toxicidad de las muestras impactadas con hidrocarburos en mayor o menor proporción.

Este trabajo es de importancia ya que proporciona la metodología a seguir en el tratamiento de semillas de lechuga para cumplir con una parte de los objetivos propuestos.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. El Suelo

El suelo es la capa superior de la corteza terrestre que se forma por la interacción de los sistemas atmósfera, hidrosfera y biosfera sobre la superficie de la geosfera.

Ocupa la interface entre la geosfera y los demás sistemas, en la llamada Zona Crítica (National Research Council, 2001; Brantley et.al. 2007),

La parte más dinámica de la superficie de la Tierra. La meteorización química y mecánica de las rocas y la influencia de ciertos procesos microbiológicos producen el suelo. La meteorización está controlada esencialmente por la energía solar, que regula el ciclo del agua y alimenta los sistemas vivientes, y por circunstancias locales favorables (como la topografía) y propiedades intrínsecas de las rocas (permeabilidad, alterabilidad).

Después de un largo periodo de meteorización, y bajo condiciones climáticas estables, el suelo puede alcanzar su equilibrio. Pero cuando uno de los parámetros del sistema varía, el equilibrio se rompe. La interacción con el hombre, un componente singular de la biosfera, puede romper también el equilibrio, debido a su uso (agricultura, industria, minería, ganadería, etc.). Este tipo de modificación negativa del suelo se denomina normalmente degradación. (Romero *et al.*2008)

Una de las formas de degradar el suelo es por medio de la contaminación con metales, ya que reducen su potencial de auto remediación e influyen en el desarrollo óptimo del ecosistema; por ello, surgió el interés de estudiarlos.

2.2.2 Definición de Muestreo

Al realizar una investigación basada en el estudio de una población, es necesario tomar una muestra que permita perseguir el objetivo en cuestión. Según (Fleitman. 2007), cuando se determina al azar los individuos que constituirán la muestra, hablamos de un tipo de muestreo probabilístico; el cual es el adecuado cuando se desean generalizar los resultados que se obtienen a partir de la muestra hacia toda la población.

Entre los diferentes tipos de muestreo se encuentra el muestreo aleatorio estratificado empleado para esta investigación, el cual consiste en dividir la población de N individuos, en k subpoblaciones o estratos, atendiendo a criterios que puedan ser importantes en el estudio, de tamaños respectivos N_1, \dots, N_k ,

$$N = N_1 + N_2 + \dots + N_k$$

Y realizando en cada una de estas subpoblaciones muestreos aleatorios

simples de tamaño n_i $i = 1, \dots, k$. (Casal *et al.* 2003)

Otro factor a considerar al momento de realizar un muestreo es la profundidad. Volke *et al.* (2005) expresan que existen dos porciones de suelo que son importantes para un muestreo ambiental: (i) la capa superficial (0-15 cm), que refleja la deposición de contaminantes transportados por aire o depositados recientemente; y (ii) la capa sub-superficial, en donde puede encontrarse contaminantes depositados por derrames de los líquidos o por entierros y que pueden encontrarse a profundidades considerables.

En este caso, se toma la parte superficial puesto que en ella se desarrollan las plantas y la mayoría de las raíces y es donde hay mayor contacto con la escoria que es el principal agente contaminante en los suelos impactados por la actividad metalúrgica.

2.2.3. Contaminación del suelo

Se entiende por suelo contaminado, según organismos internacionales, aquel que representa una amenaza para la salud humana y el medio ambiente debido a la introducción de elementos que difieren de la

composición química del mismo o que se encuentran en niveles inusuales a los propios del suelo, también es todo aquel elemento que por si mismo o por su efecto el resto de los componentes genera un efecto nocivo para los organismos del suelo, sus consumidores, o es susceptible de transmitirse a otros sistemas (Martínez *et al.*2005). Los efectos producidos por un suelo contaminado son muchos y van desde disminución de su capacidad de autodepuración hasta incluso llegar a convertir los suelos en no productivos para el desarrollo de cultivos y de microorganismos.

La metodología usada normalmente para detectar suelos contaminados, es mediante análisis químicos. Hoy en día se propone ser más amigables con el ambiente y ver como es el impacto a futuro de los suelos empleando cultivos de plantas y microorganismo como indicadores de contaminación, para determinar la “salud” del suelo, en términos de fertilidad. (Duelli *et al.* 1998)

2.2.4. Metales en Suelos

Contaminación del suelo por Metales

Los metales pesados, y en general los elementos traza, están presentes en relativamente bajas concentraciones en la corteza terrestre, los suelos y las plantas, pero la actividad humana ha incrementado el contenido de estos metales en el suelo en cantidades considerables (García y Dorronsoro, 2005). La presencia de concentraciones nocivas (anomalías) en los suelos es una degradación especial denominada contaminación. Los elementos traza en los suelos pueden ser de origen geogénico o antropogénico. Los elementos de origen geogénico proceden de la roca madre, de actividad volcánica, o de la lixiviación de mineralizaciones. Los metales pesados de

origen antropogénico derivan de residuos peligrosos, procedentes de actividades industriales, minería e industria agrícola, y residuos sólidos urbanos (RSU).

La peligrosidad de los contaminantes en los suelos no viene dada necesariamente por su concentración total, sino, especialmente por su disponibilidad. (Romero *et al.*2008)

Es por ello que en este trabajo se evaluarán metales disponibles presentes en los suelos de la industria acerera.

La principal fuente de contaminación de esta industria en la zona es la escoria, dejada tras años de desempeñar sus labores y que se encuentra dispuesta en el suelo de estudio, dejándolo en contacto con los metales característicos de la escoria como el hierro, níquel, plomo y otros que cuantificaremos como parte de la investigación.

Evaluación de metales disponibles

Al determinar la cantidad de metales disponibles en una muestra de suelo, podemos verificar si no alcanza o supera los niveles máximos permisibles. La disponibilidad de los metales presentes en una muestra de suelo; puede ser medida por un método químico utilizando agentes quelantes como el EDTA, los cuales quelan o captan todo el ion metálico disponible en la solución de suelo (Kabata- Pendias, 2000; Reichaman, 2000). La cantidad de nutrientes extraído variara con el pH del agente extractante y su concentración, el tiempo de agitación y la temperatura y la proporción suelo: disolución.

El pH es un parámetro importante para definir la movilidad del catión, debido a que en medios de pH moderadamente alto se produce la

precipitación como hidróxidos. En medios muy alcalinos, pueden nuevamente pasar a la solución como hidroxicomplejos. Por otra parte, algunos metales pueden estar en la disolución del suelo como aniones solubles. Tal es el caso de los siguientes metales: Se (Selenato y/o Selenito), V (Vanadato), As (Arseniato y/o Arsenito), Cr (Cromatos).

Finalmente para la determinación de metales en las muestras se empleara el método de absorción atómica con llama y en la Tabla 1 se muestran algunos parámetros a considerar para el análisis.

Tabla 1. Parámetros óptimos característicos de cada elemento para su determinación por absorción atómica a la llama.

Elemento	Longitud de onda nm	Gases de la llama* mg/L	Límite de detección del instrumento mg/L	Límite de determinación mg/L	Rango óptimo de concentración mg/L
Ag	328,1	A-Ac	0,01	0,06	0,1 – 4
Al	309,3	N-Ac	0,1	1	5 – 100
Au	242,8	A-Ac	0,01	0,25	0,5 – 20
Ba	553,6	N-Ac	0,03	0,4	1 – 20
Be	234,9	N-Ac	0,005	0,03	0,05 – 2
Bi	223,1	A-Ac	0,06	0,4	1 – 50
Ca	422,7	A-Ac	0,003	0,08	0,2 – 20
Cd	228,8	A-Ac	0,002	0,025	0,05 – 2
Co	240,7	A-Ac	0,03	0,2	0,5 – 10
Cr	357,9	A-Ac	0,02	0,1	0,2 – 10
Cs	852,1	A-Ac	0,02	0,3	0,5 – 15
Cu	324,7	A-Ac	0,01	0,1	0,2 – 10
Fe	248,3	A-Ac	0,02	0,12	0,3 – 10
Ir	264,0	A-Ac	0,6	8	–
K	766,5	A-Ac	0,005	0,04	0,1 – 2
Li	670,8	A-Ac	0,002	0,04	0,1 – 2
Mg	285,2	A-Ac	0,0005	0,007	0,02 – 2
Mn	279,5	A-Ac	0,01	0,05	0,1 – 10
Mo	313,3	N-Ac	0,1	0,5	1 – 20
Na	589,0	A-Ac	0,002	0,015	0,03 – 1
Ni	232,0	A-Ac	0,02	0,15	0,3 – 10
Os	290,9	N-Ac	0,08	1	–
Pb	283,3	A-Ac	0,05	0,5	1 – 20
Pt	265,9	A-Ac	0,1	2	5 – 75
Rh	343,5	A-Ac	0,5	0,3	–
Ru	349,9	A-Ac	0,07	0,5	–
Sb	217,6	A-Ac	0,07	0,5	–
Si	251,6	N-Ac	0,3	2	5 – 150
Sn	224,6	A-Ac	0,8	4	10 – 200
Sr	460,7	A-Ac	0,03	0,15	0,3 – 5
Ti	365,3	N-Ac	0,3	2	5 – 100
V	318,4	N-Ac	0,2	1,5	2 – 100
Zn	213,9	A-Ac	0,005	0,02	0,05 – 2

* A-Ac = aire – acetileno, N-Ac = óxido nítrico - acetileno

(Fuente: Zagal y Sadwaka, 2007)

2.2.5. Toxicidad en el suelo

La toxicidad del suelo se relaciona con los elementos que en el se encuentran; cuando un elemento o compuesto químico tiene la capacidad de afectar adversamente alguna función biológica del suelo se dice que es tóxico. Los materiales o compuestos tóxicos no tienen origen biológico, excepto el caso particular de las toxinas que son compuestos tóxicos biogénicos. Los contaminantes pueden abandonar un suelo por volatilización, disolución, lixiviado o erosión, y pasar a los organismos cuando pueden ser asimilables (bioasimilables), lo que normalmente ocurre cuando se encuentran en forma más o menos soluble. En concreto, la posibilidad de que un elemento (contaminante o no) quede libre y pase a disolución en un suelo se llama disponibilidad (Romero *et al.* 2008).

La biodisponibilidad sería el grado de libertad en que se encuentra un elemento o compuesto de una fuente potencial para ser capturado por un organismo (ingerido o adsorbido) (Newman y Jagoe, 1994). Normalmente sólo una fracción pequeña de una sustancia potencialmente contaminante de un medio es biodisponible. Su efecto suele ser negativo, pero también puede ser indiferente para un organismo específico.

La influencia de los niveles anómalos de metales en el suelo contribuyen a la toxicidad de los mismos, considerando un metal pesado - tóxico aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando esta en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo los metales alcalinos y alcalino- térreos) y su presencia en la corteza terrestres es inferior a 0,1%

2.2.6 Ensayo de toxicidad con semilla de lechuga

Bioensayos

Zagal y Sadwaka (2007), definen los bioensayos de toxicidad como una herramienta para evaluar la calidad de los residuos respecto al riesgo que implican para la biota que reside en los cuerpos receptores de afluentes.

Los bioensayos de toxicidad son necesarios, debido a que las pruebas fisicoquímicas no resultan suficientes para valorar los potenciales efectos sobre los organismos en diversos ecosistemas, no siendo posible determinar, por ejemplo, la interacción de los factores químicos y los contaminantes.

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L) es una prueba estática de toxicidad aguda (120 h de exposición) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos (toxicidad en plantas) de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocotilo. Es importante destacar que durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos.

Por otra parte, muchas de las reacciones y procesos involucrados son generales para la gran mayoría de las semillas, por lo que la respuesta de

esta especie y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general. El éxito o aptitud de una plántula para establecerse en un ambiente determinado es relevante para garantizar la supervivencia de la especie. La evaluación del desarrollo de la radícula y del hipocotilo constituye indicadores representativos para determinar la capacidad de establecimiento y desarrollo de la planta. (Sobrero et al, 2004)

Relación dosis-respuesta

Uno de los aspectos importantes en toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto nocivo que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente. Los gráficos bivariantes como se aprecia en la Figura 1 muestran en general patrones no rectilíneos de tipo sigmoide.

Existen muchas formas de determinar la toxicidad, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba. La mayoría de las pruebas de toxicidad suministran una estimación de la dosis (o concentración en el alimento, aire o agua) que produce una respuesta tóxica a un nivel del 50%. Por ejemplo, la dosis letal media es la dosis o concentración que mata al 50% de la población (CL_{50}).

Finalmente, es importante destacar que, en lo que respecta al análisis de las relaciones entre la concentración de un tóxico y la respuesta o efecto del mismo en la materia viva, existen otras aproximaciones al análisis de

dichas relaciones en las que, básicamente, sólo se pretende determinar la concentración a la cual no se observa un efecto nocivo del tóxico sobre el organismo expuesto, o la concentración más baja a la cual se observa un efecto tóxico. Este tipo de análisis se realiza a través del método de ANOVA (análisis de la varianza) o su equivalente no paramétrico.

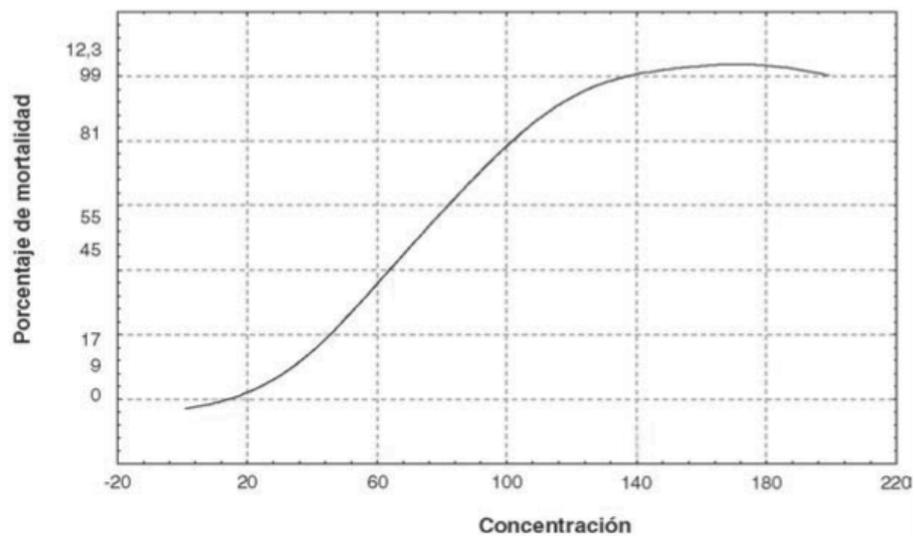


Figura 1. Curva de relación dosis-respuesta (Fuente: Díaz *et. al.* 2004)

La selección del método a utilizar para estimar los valores de $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$ de este tipo de pruebas de toxicidad aguda con múltiples concentraciones dependerá de la forma de la distribución de tolerancias (lo que se refiere al porcentaje de organismos de una población dada que se verá afectada a una cierta dosis; así, la distribución de tolerancias es una cierta distribución de frecuencias o de probabilidades de tolerancias a las distintas dosis del tóxico) y que las concentraciones o dosis seleccionadas las caracterizan (por ejemplo, el número de mortalidades parciales).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación realizada para llevar a cabo los objetivos de este proyecto se basó en un estudio cuantitativo de tipo experimental, el cual tuvo como variable independiente la actividad metalúrgica a la cual se ha sometido el suelo durante 22 años.

La manipulación de la variable independiente se realizó según Duran (2011) en tres grados o niveles que implican distancia desde el punto de exposición máxima (contacto directo con la escoria) como primera sección, una sección más alejada de la escoria (exposición mínima) y otra sección intermedia que se encuentre entre las dos secciones anteriores.

Además, se estableció una sección de control (una sección no afectada dentro de la zona delimitada) que sirve de comparación para determinar los diferentes niveles de contaminación en presencia de la actividad humana.

Las variables independientes que se manejaron en nuestro caso, se relacionaron con el contenido de metales en el suelo, el índice de germinación de las semillas y la correlación de ambos factores.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población en estudio estaba constituida por el área total de la empresa de 7,2 Ha. El área total fue dividida en dos secciones: la primera implica cuatro parcelas entre las cuales se encontraba el área de producción y la segunda; el área visualmente contaminada ocupando el resto de las parcelas.

El área de producción implica 2 Ha que serian dos parcelas y un poco más de una tercera parcela. En esta área el terreno no ocupado por la construcción de la industria, no presenta signos de impacto visible en el suelo pues la vegetación se presenta homogénea y se considero tomar esta sección como punto de control.

La segunda área se dividió en tres secciones aproximadamente de 12Ha cada una, que ejemplifican los grados o niveles de variación de la actividad metalúrgica. Los niveles de variabilidad se establecieron del 1 al 3; donde la sección 1 fue la más cercana a la construcción y la 3 la más alejada. La distancia seleccionada para delimitar las secciones fue de 80 m aproximadamente entre sección y sección y se inicio desde la zona de producción hasta el punto mas alejado de la misma, dentro de la delimitación. (Duran, 2011)

Se empleo un muestreo aleatorio estratificado como explica (Volke et al. 2005), en este tipo de muestreo la población de estudio se subdivide en estratos que tienen cierta homogeneidad en el terreno y en cada estrato se realiza un muestreo aleatorio simple.

Las secciones anteriormente mencionadas se dividieron en tres secciones, la cual hace un total de nueve secciones de 0,4 Ha

aproximadamente para cada uno, que abarcaron toda el área con impacto visible. Las secciones fueron denominadas a, b y c para cada sección; como se muestra en la Figura 2. Se optó por un muestreo estratificado porque en las diferentes secciones de contaminación se presenta marcas de impacto específicas que podría ser indicativos de una región que presente una heterogeneidad significativa (Durán, 2011).

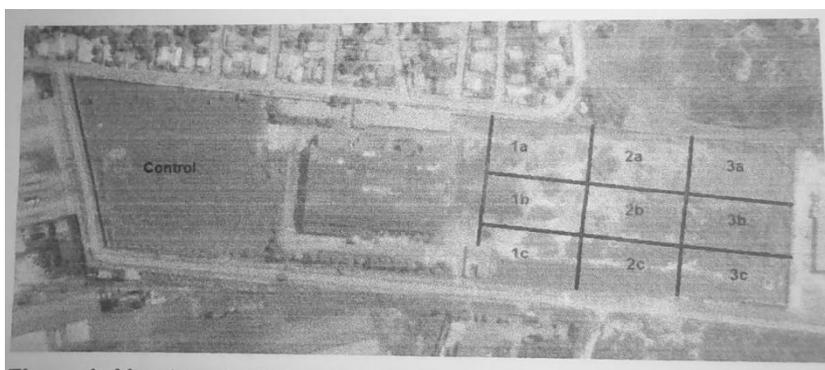


Figura 2. Muestreo aleatorio estratificado en la zona delimitada de estudio. (Fuente: Duran 2011)

Como plantea Duran, en cada estrato se seleccionaron 10 muestras simples. Posteriormente de cada sección se realizó una muestra compuesta, la cual estuvo conformada por las muestras simples anteriormente mencionadas. Se considero realizar una selección de diez muestras por estrato, las cuales fueron seleccionadas al azar con un tamaño de 10 m² por 20 cm de profundidad. La sección de control se muestreo aleatoriamente seleccionando 10 puntos al azar y empleando transeptos en zigzag según las características del terreno, los cuales conforman la muestra compuesta; de igual manera que las secciones afectadas por la actividad industrial.

Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico estériles, las cuales fueron debidamente identificadas por estrato. Se transportaron en cavas hasta el laboratorio a una temperatura de 4°C aproximadamente.

3.3. DETERMINACIÓN DE METALES EN SUELOS

3.3.1. Preparación de patrones

El método empleado fue el de estándar externo (curva de calibración), para ello se prepararon soluciones madre (patrón concentrado) de cada elemento como se describe en el apéndice A y posteriormente los patrones de calibración con alícuotas a diferentes concentraciones dentro de los intervalos óptimos de concentración para establecer la curva de calibración.

Los patrones empleados para la determinación de metales disponibles se diluyen con la mezcla extractante de (EDTA 0,05M- trietanolamina- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Agua a pH 7). Dichos patrones deben encontrarse en los intervalos de concentración mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2. Intervalos de concentración, sales empleadas y longitud de onda necesaria para la determinación de metales por espectrometría de absorción atómica a la llama. Basados en (Zagal y Sadwaka, 2007).

Elemento	Sales a emplear	Longitud de onda (nm)	Rango de concentración (ppm)
Fe	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	248,3	0,3-10
Ni	$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	232,0	0,3-10
Co	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	240,7	0,5-10
Zn	ZnCl_2	213,9	0,05-2
Mo	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	313,3	1,0-20
Cr	$\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	357,9	0,2-10
Pb	PbSO_4	283,3	1,0-20

3.3.2. Preparación de las muestras

Pesar 20 g de cada muestra de suelo (por triplicado) tamizada y seca al aire, en un envase aproximadamente de 150mL con tapa. Se le añadió 40 mL de una mezcla extractante (EDTA 0,05 M, trietanolamina, en cloruro de calcio dihidratado- agua a pH 7) y se colocó en un orbitador orbital (Figura 3) por un lapso de 2 horas. Luego, se filtro empleando papel de filtro tipo Whatman 41 y se descarto los primeros mililitros. Se conservo lo demás para su análisis.



Figura 3. Agitador orbital. (Fuente: Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, FACYT-UC, 2012)

La cuantificación de metales tanto en patrones como en muestras se realizó por la técnica de absorción atómica, el instrumento empleado fue el Espectrómetro de Absorción Atómica a la llama GBC AVANTA 932 AA empleando como fuente de radiación una lámpara de cátodo hueco para cada metal en particular con dispositivo de llama aire-acetileno.



Figura 4. Espectrómetro de absorción atómica a la llama.

3.4. Bioensayo con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) y rábano (*Rhaphanus sativus*).

3.4.1 Preparación del control negativo

Para el control negativo, se preparó una solución de agua dura reconstituida de acuerdo a la metodología representada en la Figura 5 (Escobar y Pereira, 2009), manteniendo el pH en 8.

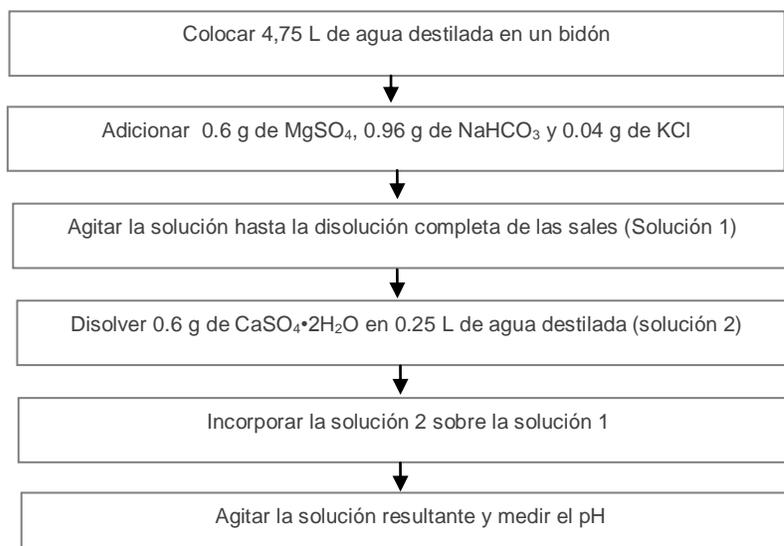


Figura 5. Metodología aplicada para la preparación del control negativo. (Fuente: Agilar y Bustillo 2011)

3.4.2. Preparación del control positivo

Para el control positivo, una vez determinados los metales y obtenido los que se encuentra en forma disponible, se utilizó la sal de ese metal (Tabla 2). Para preparar 5 suspensiones de suelo y agua reconstituida a diferentes concentraciones (10, 5, 1, 0,5, 0,1 y 0) % p/v que posteriormente se compararon con las muestras. Para la obtención de las mismas se prepararon soluciones al 10% p/v (solución madre), pesando $(5,0000 \pm 0,0001)$ g de cada sal y se diluyó con agua reconstituida en un balón de 50 mL hasta llegar al aforo. A partir de las soluciones madre se preparó el resto de las soluciones a las concentraciones respectivas. Se transfirieron a balones aforados de 25 mL los correspondientes volúmenes de las soluciones madre, los cuales fueron: 25mL, 12,5 mL, 2,5 mL, 1,25 mL y 0,25 mL. Estos volúmenes se diluyeron igualmente con agua reconstituida hasta alcanzar el aforo.

3.4.3. Preparación de los extractos de suelos

Se pesaron 10 gramos de muestra en 100 ml de agua reconstituida (1:10) preparada para el control negativo, luego de agitarlos 1 hora y se dejaron en reposo por 24 horas y se filtraron. (Escoto *et al.*, 2007).

Luego de esto se procedió a realizar 4 diluciones al 5, 1; 0,5 y 0,1 % p/v de los lixiviados concentrados tomando (25, 5, 2,5 y 0,5) mL para cada zona por triplicado.

3.4.4. Preparación de los sistemas de germinación

Los sistemas para realizar el bioensayo se realizaron mediante el siguiente procedimiento:

- Colocar en cada cápsula de Petri un disco de papel de filtro.
- Marcar correctamente cada caja con la muestra correspondiente, así como la fecha y hora de inicio y término del bioensayo.
- Saturar el papel de filtro con 4 o 5 mL de un extracto del suelo, evitando que se formen bolsas de aire.
- Con la ayuda de una pinza, colocar cuidadosamente veinte semillas, dejando espacio suficiente entre ellas para permitir la elongación de las raíces.
- Tapar las cápsulas y colocarlas en bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad. Dado que algunas variedades de semillas de lechuga requieren oscuridad para que se produzca la germinación (semillas fotoblásticas negativas), las cajas de Petri deben cubrirse de la luz inmediatamente después de colocarlas en las cápsulas y durante el periodo de ensayo. Incubar durante 120 h (cinco días o hasta observar una germinación mayor al 90% en el control negativo) a una temperatura de 22 ± 2 °C. Realizar repeticiones para cada dilución ensayada.

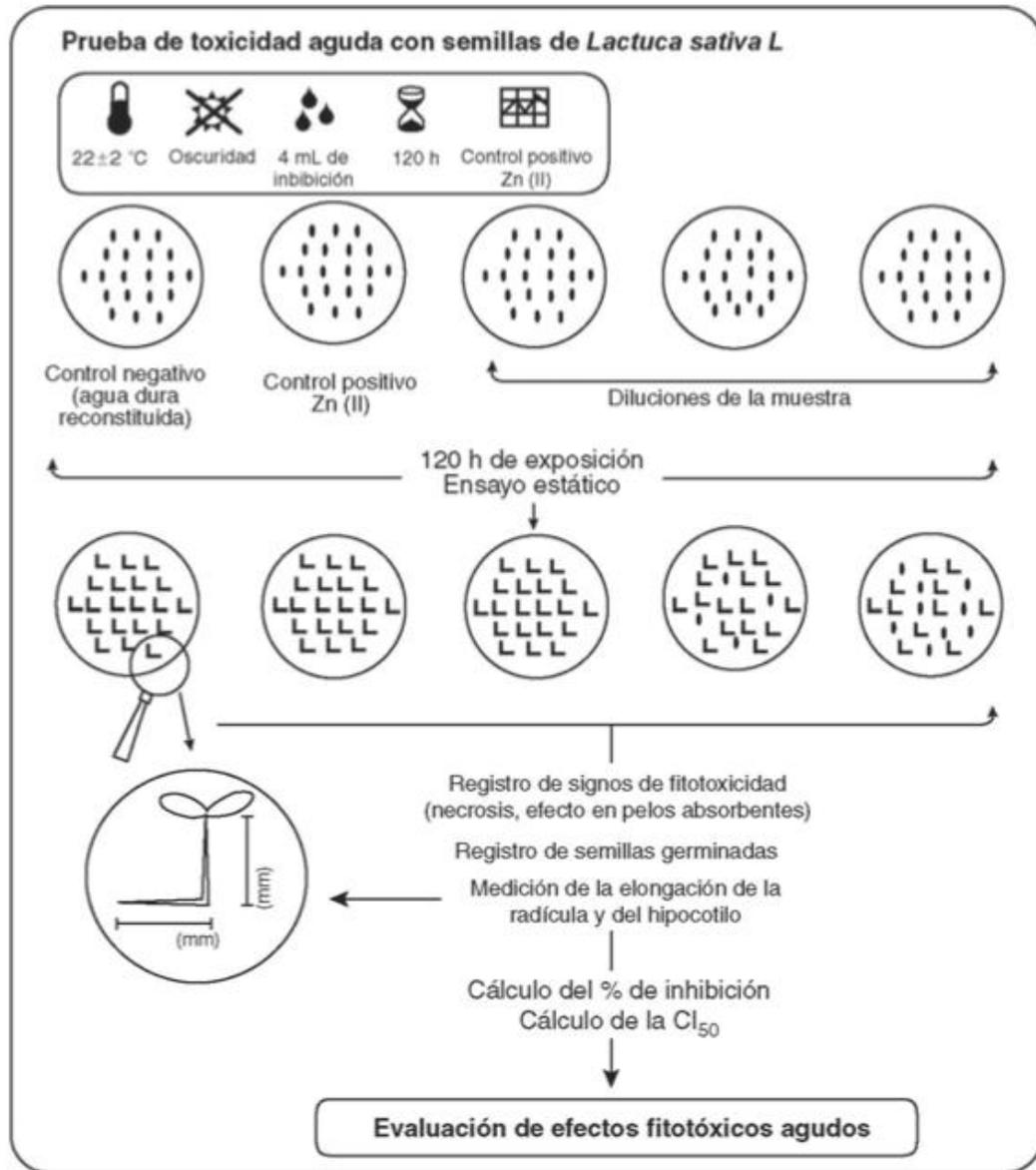


Figura 6. Esquema general del procedimiento de prueba de toxicidad con semillas. (Fuente: Sobrero et al, 2004)

3.4.5. Medida de los puntos finales de evaluación de la fitotoxicidad

Cada punto final se evaluó comparando el efecto generado en los organismos expuestos a la muestra con respecto a la respuesta en los organismos del control negativo sujetos a las mismas condiciones de ensayo, excepto por la ausencia de muestra.

Terminado el periodo de exposición, se procedió a cuantificar el efecto en la germinación y en la elongación de la radícula y del hipocotilo.

Efecto en la germinación

Se registro el número de semillas que germinaron normalmente, considerando como criterio de germinación la aparición visible de la radícula.

Efecto en la elongación de la radícula e hipocotilo

Utilizando una regla o papel milimetrado, se midió cuidadosamente la longitud de la radícula y del hipocotilo de cada una de las plántulas correspondientes a cada concentración de lixiviado. La medida de elongación de la radícula se considero desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocotilo) hasta el ápice radicular. La medida de elongación del hipocotilo se considero desde el nudo hasta el sitio de inserción de los dos cotiledones (Figura 7).



Figura 7. Esquema de plántula de *L. sativa* al finalizar el periodo de exposición. (Fuente: Sobrero et al, 2004)

3.5. Analisis Estadístico

En una muestra sin toxicidad los organismos expuestos a las muestras al 100%, no manifiestan daño o no habrá diferencias significativas en el parámetro medido respecto al grupo control.

- **Promedio, desviación estándar y límites de confianza**

El promedio o media aritmética está comprendida por la suma de todos los valores entre el numero total de medidas.

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad \text{Ec.1}$$

La desviación estándar nos permite determinar el promedio aritmético de fluctuación de los datos respecto a su punto central o media.

$$S = \sqrt{\sum_i (X_i - \bar{X})^2 / (n-1)} \quad \text{Ec.2}$$

El límite de confianza se refiere a los extremos del intervalo dentro del cual se puede suponer de manera razonable que se encuentra el valor verdadero. (Miller y Miller, 2002)

$$\bar{X} \pm t_{n-1} S \sqrt{n} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde:

\bar{X} = media de cada metal disponible.

t_{n-1} = valor de t tabulado para un intervalo de confianza de 95% a (n-1) grados de libertad para una constante de dos colas.

S = desviación estándar.

n = número de muestras.

- **Índice de germinación**

Se utilizó el índice de germinación (IG) sugerido por Tiquia (2000), por tener la ventaja de que permite evaluar la toxicidad baja (que afecta el crecimiento de la raíz) y la toxicidad pesada (que afecta la germinación), a través de la expresión:

$$IG = \frac{G \times L}{G_c \times L_c} \times 100 \quad \text{Ec.4}$$

Donde IG es el índice de germinación (%), G es el promedio de semillas germinadas en la muestra, G_c el promedio de semillas germinadas en el control negativo, L es el promedio de longitud de la radícula en la muestra (mm), y L_c es el promedio de longitud de la radícula en el control negativo (mm). El valor del IG puede variar entre 0 y superar el 100 %.

- **Índices de toxicidad**

La relación dosis respuesta de la Figura 1, se puede considerar como un indicativo del índice de toxicidad. Con ella podemos obtener la CL_{50-t} y la CE_{50-t} que son:

CL_{50-t} : Concentración de agente tóxico que causa letalidad del 50 % de la población expuesta, en relación a un tiempo de exposición (t).

CE_{50-t} : Concentración de agente tóxico que causa inhibición del 50% en un determinado parámetro, en relación a un tiempo de exposición (t).

- **Porcentaje de inhibición**

En la germinación, crecimiento de la radícula y del hipocotilo, con el promedio de elongación para cada dilución respecto del promedio de elongación del control negativo.

- **Correlación de Pearson entre la cantidad de metales con el índice de germinación**

El coeficiente de correlación de Pearson mide la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas. En el caso de que se esté estudiando dos variables aleatorias x e y sobre una población estadística; el coeficiente de correlación de Pearson se simboliza con la letra $\rho_{x,y}$, siendo la expresión que nos permite calcularlo:

$$\rho_{X,Y} = \frac{\sigma_{XY}}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{E[(X - \mu_X)(Y - \mu_Y)]}{\sigma_X \sigma_Y}, \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

- σ_{XY} es la covarianza de (X, Y)
- σ_X es la desviación típica de la variable X
- σ_Y es la desviación típica de la variable Y

De manera análoga podemos calcular este coeficiente sobre un estadístico muestral, denotado como r_{xy} a:

$$r_{xy} = \frac{\sum x_i y_i - n \bar{x} \bar{y}}{n s_x s_y} = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \sqrt{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2}}. \quad \text{Ec. 6}$$

El valor del índice de correlación varía en el intervalo $[-1, 1]$:

- Si $r = 1$, existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en proporción constante.
- Si $0 < r < 1$, existe una correlación positiva.
- Si $r = 0$, no existe relación lineal. Pero esto no necesariamente implica que las variables son independientes: pueden existir todavía relaciones no lineales entre las dos variables.
- Si $-1 < r < 0$, existe una correlación negativa.
- Si $r = -1$, existe una correlación negativa perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables llamada *relación inversa*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en proporción constante.

En términos simples podemos simplificar la correlación (r) de forma siguiente:

$$r = \sqrt{\frac{\text{Variación explicable}}{\text{Variación total}}} \quad \mathbf{Ec.7}$$

La significación del coeficiente de correlación r depende del número de pares de observaciones. Mientras mayor es su número, mayor es la probabilidad de obtener significación, puesto que el número de grados de libertad se basa en (n – 2), en lugar de (n – 1), como en casos de otros tipos de distribuciones.

El valor de r tabular debe ser sobrepasado por el valor calculado, para obtener significación. Si el valor de r calculado sobrepasa al r tabulado, se rechaza la hipótesis nula de que no existe relación entre las variables y se acepta la hipótesis alternativa, existe relación entre ellas, más de lo que pudiera atribuirse al azar.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Caracterización de los suelos

Como los suelos estudiados ya fueron caracterizados por Duran (2011), se muestra en la Tabla 3 un cuadro resumen de las características mas relevantes en cuanto a los parámetros físicos, químicos y biológicos de su investigación para cada zona y así poder compararlos con los resultados obtenidos en este estudio.

En la Tabla, las zonas 1A, 1B y 1C son las más próximas a la industria y se alejan de izquierda a derecha como se especifica en el Capítulo II Figura 2.

Las características de cada muestra son particulares para cada zona, por lo que sus diferencias intervienen en el proceso de absorción y disposición de los metales tóxicos que se estudian en nuestro caso.

Por ejemplo, la naturaleza de la contaminación, el origen de los metales, formas de deposición y las condiciones medioambientales producen acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de la temperatura y humedad de los suelos según Sauquillo *et al*, (2003). Tal como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros físicos, químicos y biológicos de suelos impactados por la actividad metalúrgica en Tinaquillo Edo Cojedes.

ZONA	Textura	pH (1:1)	CIC (cmol/kg suelo)	BT (cmol/kg suelo)	HUMEDAD (%)	CE (mOhms)	MOT (%)	BM (mgC/kg suelo)
1A	Franco Arenoso	9,14	4,27	4,44	12,46	4,73	0,73	14,3
1B	Franco Arenoso	9,25	4,01	4,07	8,08	3,39	0,39	14,3
1C	Arcilloso Arenoso	9,12	4,58	3,79	13,47	5,27	0,49	14,24
2A	Franco Arenoso	8,31	3,85	1,48	16,11	11,11	0,27	1,36
2B	Franco Arenoso	9,13	3,76	1,37	18,49	5,02	0,29	1,36
2C	Arcilloso Arenoso	7,97	6,48	1,05	9,58	5,58	1,53	8,86
3A	Franco Arenoso	7	5,11	1,01	14,87	13,08	0,9	7,5
3B	Franco Arenoso	7,41	5,43	0,29	19,05	5,73	0,55	19,93
	Arcilloso							
3C	Arcilloso	7,53	15,37	0,62	26,77	6,04	1,68	13,28
C	Franco Arenoso	6,66	13,04	0,22	11,98	6,12	4,47	22,78
	Arcilloso							

Fuente: Duran (2011). CIC= Capacidad de intercambio catiónico (cmol/kg suelo). BT= Bases totales intercambiables (cmol/kg suelo). CE= Conductividad Eléctrica (mOhms). MOT= materia orgánica total. BM= biomasa microbiana (mgC/kg suelo).

Estos parámetros físicos, químicos y biológicos pueden ser considerados como indicadores de la calidad del suelo ya que cumplen con las siguientes características según Bautista *et al.* (2004).

- Reflejan las principales restricciones del suelo, en congruencia con la función o las funciones principales que se evalúan, como lo ha sugerido Astier *et al.* (2002). Hünнемeyer *et al.* (1997) establecieron que los indicadores deberían permitir: (a) analizar la situación actual e identificar los puntos críticos con respecto al desarrollo sostenible; (b) analizar los posibles impactos antes de una intervención; (c) monitorear el impacto de las intervenciones antrópicas (donde interviene el hombre) y (d) ayudar a determinar si el uso del recurso es sostenible.

En esta investigación nos enfocamos en los últimos puntos (c) y (d) por lo que se combinaron los resultados de la tabla 3 obtenidos por Duran (2011) de caracterización y los resultados de nuestra investigación para la evaluación toxicológica de suelos impactados por la actividad metalúrgica en Tinaquillo- Edo Cojedes.

4.2. Cuantificación de metales disponibles en las muestras de suelo.

Se determinaron los siguientes metales por el método de absorción atómica a la llama: Cr, Zn, Fe, Pb, Ni, Co y Mo, en las muestras de suelo impactadas y no impactadas por la actividad metalúrgica ya que son los que se encuentran principalmente en la escoria producto de la fabricación de acero. Quijorna, N. (2011).

En la Tabla 4 se señalan los valores obtenidos de la cantidad de metales disponibles en cada zona.

Tabla 4. Concentración de metales disponibles en suelos impactados por la actividad metalúrgica en Tinaquillo Edo. Cojedes.

muestras	Pb (mg/kg)		Zn (mg/Kg)		Cr (mg/kg)		Fe (mg/kg)		Co (mg/Kg)		Ni (mg/kg)		Mo
1A	6,461	± 0,005	9,9	± 0,5	1,217	± 0,001	16	± 2	0,5	± 0,2	1,4	± 0,3	ND
1B	2,8	± 0,6	5,2	± 0,3	1,2157	± 0,0009	26,3	± 0,2	0,7	± 0,2	1,0	± 0,1	ND
1C	4,269	± 0,001	9,8	± 0,4	1,4	± 0,4	21	± 1	0,6160	± 0,0002	1,1972	± 0,0004	ND
2A	4,263	± 0,002	7,8	± 0,2	1,6	± 0,4	20,8	± 0,4	0,7	± 0,2	1,3	± 0,4	ND
2B	4,267	± 0,001	6,1	± 0,2	1,8243	± 0,0004	20,4	± 0,3	0,7	± 0,2	1,1	± 0,1	ND
2C	19	± 1	20,0	± 1,0	1,8314	± 0,0008	22	± 2	0,8	± 0,2	1,4413	± 0,0007	ND
3A	5,0	± 0,6	6,9	± 0,2	1,8243	± 0,0005	20,4	± 0,9	0,8	± 0,2	1,1	± 0,1	ND
3B	5,7	± 0,6	6,2	± 0,5	2,2	± 0,4	17,1	± 0,7	0,9227	± 0,0002	1,3	± 0,1	ND
3C	7,605	± 0,002	10,1	± 0,7	2,4505	± 0,0006	21	± 1	1,0	± 0,2	1,4	± 0,1	ND
C	13,0	± 0,6	26,3	± 1,7	2,50	± 0,01	27	± 2	1,1	± 0,2	1,5	± 0,3	ND

ND= No detectado por el equipo.

Hay que señalar que en el suelo, los metales pesados pueden estar presentes como iones libres o disponibles, compuestos de sales metálicas solubles o bien, compuestos insolubles o parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos e hidróxidos (Pineda, 2004).

Los valores de los elementos medidos en el suelo pueden estar afectados, no solo por la presencia de escoria producto de las labores que realizaba la industria metalúrgica sino también por parámetros como el pH, el potencial oxido-reducción, la materia orgánica y las reacciones biológicas del suelo. (Ratto *et al*, 2004).

De los elementos evaluados, se observa en la tabla 4 que el Molibdeno (Mo) no fue detectable (ND) y Níquel (Ni) y Cobalto (Co) se encontraron en concentraciones mínimas en todas las muestras y cuyas absorbancias fueron menores a la mínima concentración óptima de trabajo del equipo, por lo que se descartaron posteriormente para las correlaciones y bioensayos.

Sin embargo, el níquel (Ni) es también un elemento esencial para el metabolismo de las plantas, aun cuando estas requieren menos de 0,001 mg/kg de peso seco (Mahler, 2003) y el valor calculado de este metal en las muestras supera considerablemente lo requerido por las plantas por lo que pudiese influir de forma negativa en su desarrollo.

El plomo (Pb), por ejemplo, fue uno de los metales que se encontró en la mayoría de las muestras a pesar de que no se lixivia tan fácilmente (Sosa *et al*, 2006) y es un contaminante ambiental altamente tóxico, su presencia en el ambiente se debe principalmente a las actividades antropogénicas

como la industria, la minería y la fundición. En los suelos contaminados con Pb se suele encontrar también Cd y Zn (Hettiararchchi y Pierzynski, 2002) por analogía entre sus propiedades y características metálicas. Esto se pudo evidenciar en las muestras estudiadas con la presencia de Pb y Zn.

Es importante mencionar, que las zonas que poseen mayor cantidad de metales disponibles totales estudiados fueron las zonas mas alejadas de donde se encuentra dispuesta la escoria (zona 2C y 3C) al igual que la zona control (C). Esto se puede observar en la Tabla 5.

Este comportamiento del suelo control, 2C y 3C en relación al contenido de metales se puede atribuir a que estos formaban parte de la roca madre ya que según (Adriano 1986) aproximadamente un 10% de los metales se encuentran como contenido nativo en el suelo.

Tabla 5. Sumatoria de metales disponibles en las zonas impactadas por la actividad metalúrgica en Tinaquillo Edo. Cojedes.

			1	2	3
CONTROL		A	35,24	36,54	36,11
71,7	INDUSTRIA	B	37,29	34,51	33,34
		C	38,65	64,37	43,6

Los valores se encuentran reportados en (mg/kg suelo seco).

En las zonas donde se encuentra dispuesta la escoria (1A, 1B, 2A y 2B) puede que exista mayor cantidad de metales totales producto de la disposición de residuos pero no se encuentren de forma disponible para ser absorbidos por las plantas.

Es importante conocer la disponibilidad de los metales en el suelo ya que para que los metales puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, estos deben encontrarse biodisponibles con concentración del metal libre y lábil para ser captados. (Lloyd y Lovley 2000).

El concepto de biodisponibilidad de un elemento y su potencial para lixiviarse de los perfiles del suelo hacia las aguas subterráneas, se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones fisicoquímicas del ambiente y con las propiedades intrínsecas del metal como la movilidad relativa de los elementos (Burt *et al*, 2003). Es por ello que podemos decir que en las zonas 2C, 3C y C los metales poseen mayor movilidad y disponibilidad debido a las características del suelo en esas zonas por ejemplo el pH. De esta forma combinamos el estudio de Duran (2011) de las propiedades físicas, químicas y biológicas con esta investigación.

El pH y los metales:

Como las zonas estudiadas poseían pH de hasta 2 unidades por encima del control se estudio este parámetro y su influencia con el contenido de metales en las muestras.

En la Figura 8 se puede apreciar un esquema del porcentaje de metales que puede ser absorbido por el suelo dependiendo del pH. La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido, excepto el As, Mo, Se y Cr, los cuales tienden a estar más disponibles a pH alcalino (Kabata-Pendias, 2000).

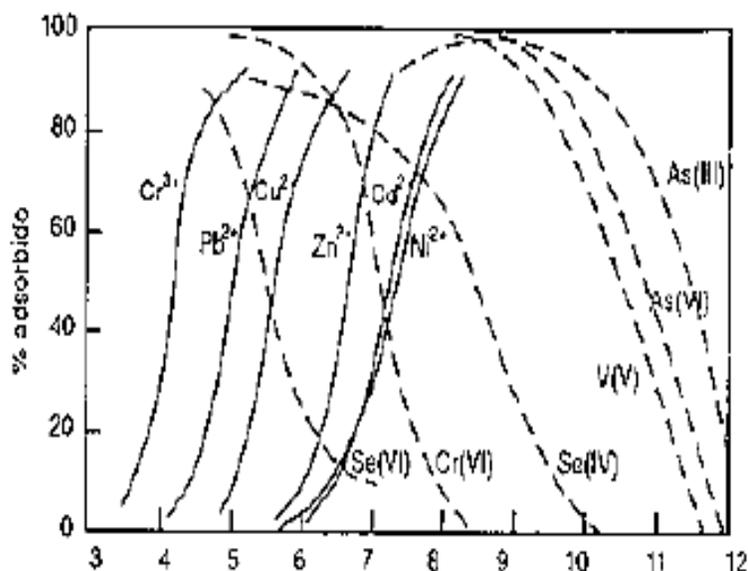


Figura 8. Influencia del pH sobre la absorción de algunos metales, a diferentes pH (Kabata-Pendias, 2000).

Los valores obtenidos de Pb y Cr en las zonas control (C) y (3C) (Tabla 4) coinciden con la figura 8 ya que estas zonas poseen características de pH neutro aproximadamente $7\pm 0,5$ (Tabla 3) que pueden hacer que los metales se encuentren con mayor disponibilidad en el suelo.

En las zonas (1A, 1B, 2A, 2B) el pH es básico de $9\pm 0,5$ y la concentración de metales disponibles es menor, eso puede ser producto de que a ese pH los metales se encuentran en forma de óxidos dificultando su disponibilidad para ser absorbidos por las plantas. Siendo el Zn el elemento mas soluble en estas 4 zonas con relación al Cr y Pb.

La textura y los metales

La zona 3C es de textura arcillosa la cual posee microporos donde el agua queda atrapada y el suelo se torna mas adhesivo que en las zonas con textura arenosa cuyas partículas son mas grandes y el suelo es mas suelto (Duran 2011), de esta forma no solo el agua sino también de sales minerales o en nuestro caso los metales pueden quedar retenidos con mayor facilidad, a pesar de ello fueron las zonas que poseían mayor cantidad de metales disponibles.

La Materia Orgánica y los metales

El contenido de materia orgánica total (MOT) en este estudio presenta una correlación estadísticamente significativa con los metales disponibles como se muestra en el apartado 4.6 Tabla 17. Esto indica que a medida que aumenta el porcentaje de materia orgánica también los hace el contenido de metales disponibles de forma lineal y esta característica es más acentuada en las secciones (2C, 3C y C).

Este comportamiento se puede explicar de acuerdo con lo descrito por Galán y Romero (2008). Indicando que la materia orgánica reacciona con los metales formando complejos de cambio o quelatos. La adsorción puede ser tan fuerte que queden estabilizados, como el caso del Cu, o formen quelatos también muy estables, como puede pasar con el Pb y Zn. En muchos casos se forman complejos organometálicos lo que facilita la solubilidad del metal, la disponibilidad y dispersión porque pueden degradarse por los organismos del suelo. Esto conduce a una persistencia de la toxicidad.

Óxidos e hidróxidos de Fe.

La escoria de la industria acerera esta constituida principalmente por óxidos de hierro y esta se encontraba dispuesta en las zonas (1A, 1B, 2A y 2B) y la cantidad de metales disponibles en dichas zonas fue menor que la zona control. Estos dos aspectos se pudiesen relacionar ya que los óxidos de hierro juegan un papel importante en la retención de metales pesados y en su inmovilización. Se encuentran finamente diseminados en la masa de suelo por lo que son muy activos. Por su baja cristalinidad y pequeño tamaño de partícula, tienen una alta capacidad sorcitiva (absorción o adsorción) para metales divalentes, especialmente Cu y Pb, y en menor extensión Zn, Co, Cr, Mo y Ni. (Galán y Romero 2008).

4.3. Bioensayos con semillas de lechuga y rabanito.

Selección de la semilla

Se evaluó de forma preliminar el porcentaje de germinación de semillas de lechuga y rabanito en controles negativos (con agua dura reconstituida) mostrando que la germinación fue mayor en las semillas de rabanito. (Ver Tabla 6).

Tabla 6. Porcentaje de germinación de las semillas de lechuga y rabanito en controles negativos.

Bioensayo	N° de semillas	Replica	Porcentaje de germinación (%)	Promedio (%)
Rabanito	10	1	100	90
		2	90	
		3	80	
Lechuga	20	1	85	78,33
		2	70	
		3	80	

Para la selección del bioensayo no solo se evaluó el porcentaje de germinación de controles negativos, sino que también, se realizó una matriz de criterios ponderados empleando los criterios de disponibilidad, tiempo de duración del bioensayo, sensibilidad, resultados experimentales de germinación y elongación de radícula e hipocotilo para ambas semillas obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 7.

A cada criterio se le asigna una ponderación del 1-5 considerando su importancia desde el de menor importancia (1) hasta el de mayor importancia (5). Y a cada bioensayo se le califica del 1 al 10. Los valores en paréntesis representan la ponderación multiplicada por la calificación de cada bioensayo.

Tabla 7. Matriz de criterios ponderados para la determinación del bioensayo a emplear.

criterios considerados	disponibilidad	tiempo	sensibilidad	resultados experimentales	total
ponderacion	2	3	4	5	
rabanito	10 (20)	9 (27)	10 (40)	10 (50)	137
lechuga	10 (20)	8 (24)	8 (32)	8 (40)	119

Evaluación de criterios

A la disponibilidad en cuanto a reactivos y materiales necesarios para llevar a cabo los bioensayos se le asigno la mayor puntuación para ambas semillas (10) ya que poseen características similares de tratamientos con reactivos y materiales de los que se disponía en el laboratorio.

Al tiempo se le asignó una puntuación de ocho (8) al bioensayo con semillas de lechuga, debido a que se realiza en apenas 120 horas, al igual que el bioensayo con semillas de rabanito, sin embargo, a éste último se le asignó una puntuación de nueve (9), ya que las semillas de lechuga requieren acondicionarse previamente antes de emplearlas como organismos para realizar el bioensayo en 120 horas e incluiría un tiempo adicional, mientras que para las semillas de rabanito no es necesario. Este acondicionamiento se debe a que las semillas de lechuga de numerosas variedades germinan mal durante los dos primeros meses siguientes a su recolección, lo cual se debe a un estado de letargo correspondiente a un tiempo de post-maduración. Entonces para que estas semillas germinen adecuadamente, necesitan sumergirse en agua durante dos o tres horas y mantenerlas al aire a 4 °C durante 4 a 6 días inmediatamente cumplido el tiempo de inmersión en el agua (García y Fernández, 1967).

El bioensayo con semillas de lechuga, debe cumplir con las condiciones adecuadas de temperatura de exposición de los organismos y de oscuridad en la cual deben permanecer los mismos; sin embargo este es uno de los más utilizados conjuntamente con el bioensayo de rabanito, por su alta sensibilidad de respuesta ante agentes contaminantes. Se le asignó mayor puntuación al rabanito tomando como resultados los experimentos realizados por Aguilar y Bustillo (2011) en donde el bioensayo de rabanito resultó más sensible versus el bioensayo con semillas de lechuga.

Los resultados experimentales se calificaron de acuerdo a los resultados obtenidos de porcentaje de germinación en controles negativos siendo mayores en los bioensayos con semillas de rabanito como se muestra en la Tabla 6, y teniendo raíces e hipocotilos más gruesos y definidos que la lechuga.

De acuerdo con estos criterios luego de la sumatoria de las puntuaciones para cada bioensayo se obtuvo que el rabanito poseía más puntos que la lechuga por lo que se tomó como objeto de estudio los bioensayos con semillas de rabanito.

4.4. Evolución de semillas de rabanito.

4.4.1 Control negativo

Los resultados obtenidos para cada una de las réplicas de los controles negativos (agua reconstituida) se observan en la Tabla 8. Este tratamiento presentó un porcentaje de germinación promedio de 90% lo que indica que las semillas germinan de forma adecuada en el medio aplicado para el

bioensayo, superando el porcentaje de germinación de 80% indicado en el empaque de las semillas.

Estos resultados pueden asociarse a los componentes presentes en el agua reconstituida (K^+ , Na^+ , Mg^{+2} y Ca^{+2}) los cuales son especies nutritivas para las plantas y que no existen agentes que alteren la germinación de las semillas y el crecimiento adecuado de las plantas (Aguilar y Bustillo 2011). De manera que se pudo comprobar la capacidad que tienen las semillas para germinar y crecer de forma óptima.

En lo que respecta a las longitudes de las radículas e hipocotilos (Ver Tabla 8) se observó un promedio de 8 ± 1 cm y 4 ± 1 cm respectivamente, donde la longitud del hipocotilo fue menor a la de la radícula, este resultado es de esperarse, debido a que la radícula es la primera parte que se forma cuando germinan las semillas, por lo que en promedio la radícula va a estar aventajada con respecto al crecimiento del hipocotilo. Se puede apreciar un comportamiento muy similar al observado por Escobar y Pereira (2009).

Tabla 8. Bioensayo de control negativo con semillas de rabanito.

Replica	Germinacion %	Promedio %	Tamaño radícula (cm)	Promedio (cm) (P ± 1)	Tamaño hipocotilo (cm)	Promedio (cm) (P ± 1)
1	100	90	6,5	8	2,5	4
			8,1		3,4	
			7		3,2	
			10		3,1	
			6,3		2,2	
			7,3		4,5	
			8		3	
			6,7		2,1	
			9,1		4	
			7		1,7	
2	80	90	11	8	6,3	4
			7,7		4,2	
			6,3		5	
			7,2		2,7	
			9		4	
			5,3		3,7	
			6,1		6	
			7,2		3,2	

La desviación estándar de las longitudes de radícula e hipocotilo son bastante grandes en relación al valor obtenido ya que las longitudes son muy variables incluso en algunos casos se aplicó la prueba estadística Q para el descarte de valores anómalos en las muestras y controles.

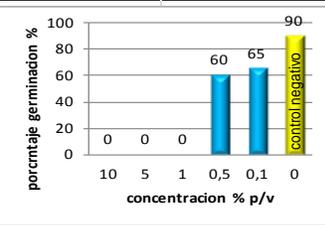
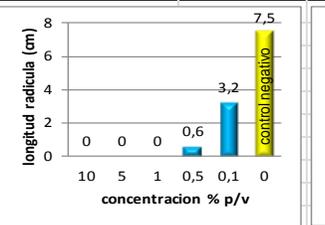
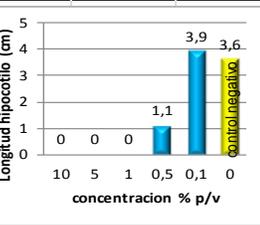
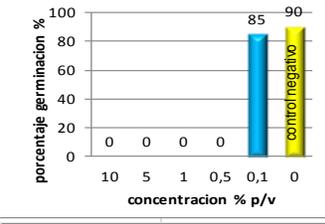
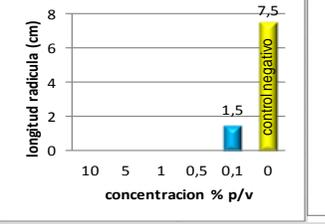
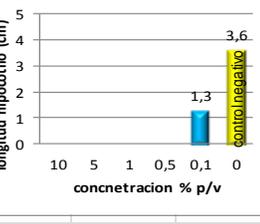
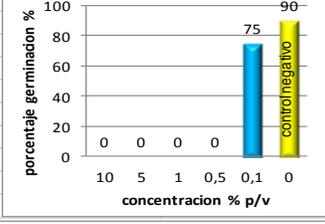
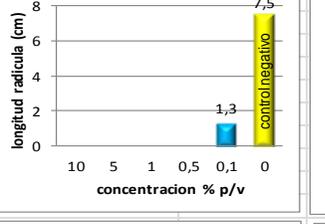
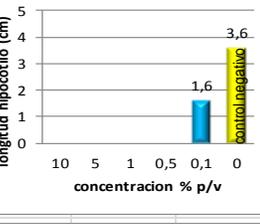
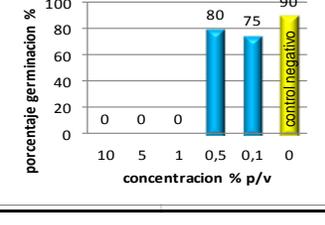
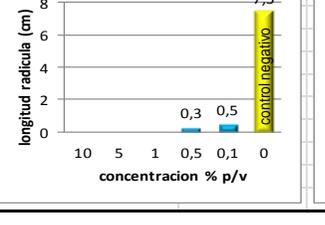
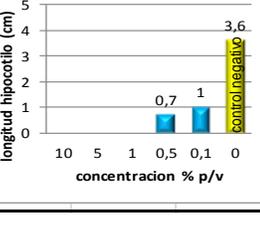
4.4.2 Controles positivos

Una vez determinados los metales disponibles presentes en las muestras de suelo (Pb, Fe, Cr y Zn) se realizaron diluciones como se describe en el capítulo 3 (3.4.2) de las sales de cada elemento y se calculo el porcentaje de germinación y elongaciones en radícula e hipocotilo con respecto al

control negativo. Como se observa en la Tabla 9, en general a mayor concentración de sal del metal son menores los porcentajes de germinación al igual que se afecta el crecimiento de la radícula e hipocotilo.

Para todos los casos estudiados a partir de un 1% de concentración del metal no se produce germinación siendo consideradas las concentraciones superiores como tóxicas para las plantas.

Tabla 9. Bioensayos de semillas de rabanito en controles positivos para los metales disponibles en muestras impactadas por la actividad metalúrgica.

CONTROL POSITIVO	PORCENTAJE DE GERMINACION	LONGITUD DE RADICULA (cm)	LONGITUD DE HIPOCOTILO (cm)
Pb(NO ₃) ₂			
FeSO ₄ .7H ₂ O			
CrCl ₃ .6H ₂ O			
ZnCl ₂			

Los resultados obtenidos en relación al control positivo de Zn se asemejan a los obtenidos por Aguilar y Bustillo (2011), donde se presumió que a concentraciones mayores a 4% p/v se inhibe la germinación de la semilla, por ser el ion Zn^{+2} un agente tóxico para las mismas a ciertas concentraciones e incluso se pudo comprobar en nuestro estudio que a concentraciones aun mas pequeñas de hasta 1% p/v se inhibe la germinación causando letalidad y en la elongación de la radícula e hipocotilo causando disminución, siendo mas sensibles a las variaciones estas dos ultimas.

En la Tabla 9 se observa en la germinación que para el Fe, Cr y Zn a concentraciones más pequeñas el porcentaje de germinación se aproxima al control negativo, esto puede deberse a que en concentraciones pequeñas algunos metales como el Zn actúan como micronutrientes necesarios para las plantas.

En lo relacionado con la elongación promedio de las radículas e hipocotilos para todos los casos de control positivo, a medida que disminuye la dosis aumenta la elongación de las mismas, aun así son inferiores al control negativo, esto se puede deber a que los metales como Pb, Zn, Cr y Fe son metabolitos moderadamente fitotóxicos, que limitan el desarrollo de las plantas pero no pueden impedir la germinación de las semillas a bajas concentraciones. (Varnero *et al*, 2007).

En este estudio, el Pb fue quien presentó correlación estadísticamente significativa con respecto al índice de germinación (Ver Tabla18), Rodríguez, *et al*. (2006) indican que los mecanismos de fitotoxicidad del plomo están relacionados con la permeabilidad de la membrana celular, reacciones de los

grupos sulfidrilos (-SH) con cationes y afinidad para reaccionar con grupos fosfatos.

Los resultados que se aprecian en la Figura 9 para el plomo coinciden con Sobrero y Ronco (2004) quienes en sus investigaciones describen que un indicador de fitotoxicidad o de crecimiento anormal en las plántulas tratadas y controles fue la aparición de (ápices radiculares con necrosis, pelos absorbentes poco desarrollados, radículas con crecimiento ensortijado y necrosis en los cotiledones). La necrosis (presencia de tejido muerto) se evidencia como manchas localizadas de color parda, blanca o marrón. También presentan vulnerabilidad ante ataques de enfermedades e insectos (Angle *et al* 1997).

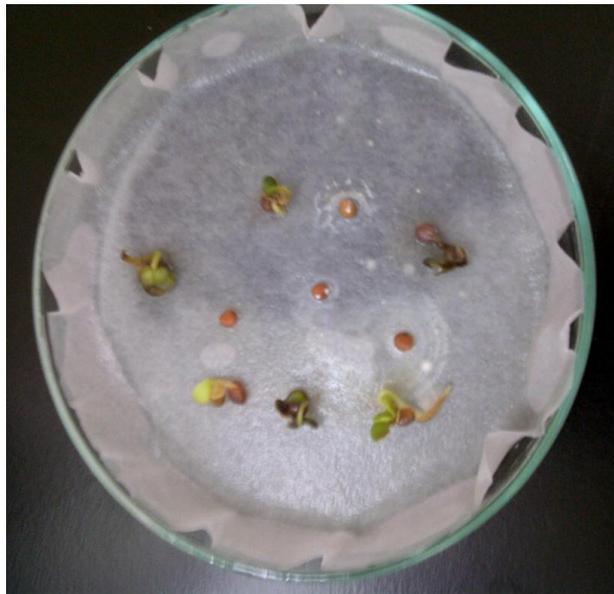


Figura 9. Crecimiento de rabanito en muestras al 0.5% de concentración de plomo.

4.4.3 Lixiviados del suelo

En el caso de los lixiviados, tras realizar los bioensayos se obtuvo que el porcentaje de germinación variaba considerablemente en las zonas más alejadas de la industria (2C, 3A, 3B, 3C y C), tal como se muestra en la Tabla 10. Se tomaron los lixiviados de mayor concentración (10% p/v) ya que las diluciones no presentaron la tendencia lineal creciente esperada, donde a mayor concentración de lixiviado sería menor la germinación de las semillas de rabanito, esto puede ser producto de factores medioambientales y/o condiciones experimentales del análisis.

Tabla 10. Porcentaje de germinación (%) en concentración al 10% p/v de suelo para semillas de rabanito en las muestras y zona control.

			1	2	3	
CONTROL	INDUSTRIA	A	* 83,33	* 76,67	* 40,00	CONTROL NEGATIVO
			** 13,86	** 15,06	** 75,00	
* 30		B	* 66,67	* 90,00	* 55,00	* 90
**33,33			** 22,91	** 0,00	** 12,86	
		C	* 65,00	* 30,00	* 36,67	** 15,71
			** 10,88	** 0,00	** 41,66	

El primer valor (*) corresponde al porcentaje de germinación y el segundo (**) a su coeficiente de variación (%). Para las secciones 1, 2 y 3 los coeficientes de variación fueron de 14,14, 48,06 y 22,25 (%) respectivamente.

En cuanto al porcentaje de germinación de la zona control (C) se puede decir que se asemeja a las zonas que están más alejadas de la industria. (2C y 3C).

En el apéndice B se muestran los diferentes porcentajes de germinación para cada sección a diferentes concentraciones indicando que no hay una tendencia definida para relacionar la concentración de lixiviado

con el porcentaje de germinación, esto se puede deber a que la germinación no es tan sensible a las variaciones de concentración como lo son la elongación de la radícula y el hipocotilo tal como lo describe Wang (1991).

La elongación de la radícula e hipocotilo se aprecian en las Tablas 11 y 12 para las muestras con concentración de 10% p/v. Para el resto de las concentraciones las elongaciones variaban ampliamente y en algunos casos superaban el tamaño de los controles negativos como se aprecia en el apéndice E.

Esta particularidad coincide con Sobrero y Ronco (2004), donde describen que un aspecto a considerar es el mayor desarrollo en la elongación de la radícula o el hipocotilo en algunas muestras con respecto al control. La exaltación en un punto final u hormesis no debe ser interpretada como un efecto favorable o estimulante. Si bien es posible que muchos compuestos (ej.: Cu y Zn) a bajas concentraciones produzcan exaltación por ser micronutrientes vegetales, esta respuesta debe ser evaluada de manera conjunta con los efectos registrados en otras pruebas.

Tabla 11. Longitud de la radícula (cm) en concentración al 10% p/v de suelo para semillas de rabanito en las muestras y zona control.

			1	2	3	
CONTROL	INDUSTRIA	A	* 5,39	* 6,88	* 5,75	CONTROL NEGATIVO
			** 56,83	** 53,57	** 39,81	
* 3,30		B	* 6,93	* 6,88	* 2,86	* 7,50
** 84,72			** 40,92	** 46,22	** 51,42	
		C	* 6,36	* 3,68	* 2,91	** 19,28
			** 26,73	** 35,56	** 90,12	

El primer valor (*) corresponde a la longitud de la radícula y el segundo (**) a su coeficiente de variación (%). Para la secciones 1, 2 y 3 los coeficientes de variación fueron de 12,50, 31,78 y 45,08 (%) respectivamente.

La zona de suelo control (C) fue una de las que poseía menor longitud de radícula coincidiendo con la mayor concentración de metales disponibles, al igual que las zonas (2C y 3C). Los resultados en cuanto a concentración de Zn y germinación de la zona C y 2C concuerdan con los obtenidos por Adriano, (1986) el cual indico que a concentraciones de 4,3 ppm de Zn soluble se produce el cese del crecimiento radicular aplicado en plantas de lechuga. También poseen la mayor concentración de Pb en comparación con el resto y los resultados concuerdan con los estudios de Kabata y Pendias (2000), estos indican que en algunas plantas, el plomo es capaz de acumularse principalmente en las raíces siendo poca su presencia en otras partes u órganos de los cultivos.

La zona 3B es una de las que posee mayor contenido de metales disponibles luego de la zona control y 2C por lo que la presencia de estos metales tóxicos pueden producir reducción en las raíces, quemaduras en las hojas y vulnerabilidad ante los ataques de enfermedades e insectos. (Angle *et al* 1997, Kumar *et al* 1995; Roane *et al* 1994).

Todas las muestras se encontraron por debajo del valor obtenido en el control negativo (agua reconstituida), por lo que las plantas podrían estar siendo afectadas por la cantidad de metales disponibles en el suelo como expresa Cox *et al.* (1996), las raíces son la parte de la planta más adaptadas a la acumulación de los metales. La correlación de la longitud de radícula fue inversamente significativa con el contenido de plomo y cromo por lo que a medida que incrementa la concentración de estos metales disminuye el tamaño de la radícula. (Ver Tabla 18)

Cabe destacar que los resultados obtenidos de elongación de radícula concuerdan con el estudio de Varnero *et al* (2007) indicando que la disminución en el crecimiento de radícula de los bioensayos está relacionada con la presencia de metabolitos moderadamente fitotóxicos, incapaces de impedir la germinación de las semillas, pero sí limitar el desarrollo de sus radículas. También la retención de metales y por lo tanto la elongación de radícula pueden ser afectadas por características físicas, químicas y/o biológicas del suelo.

Un ejemplo de ello sería la textura ya que algunos suelos típicamente arcillosos, proporcionan para las plantas una capacidad asimilativa más alta para el límite de absorción de Cd, Ni, Pb y de Cu que en otros suelos (Mahdy *et al*, 2007). Esta característica coincide particularmente con la concentración de plomo para las zonas más alejadas de la industria (2B, 3B, 3C y C) donde el suelo es arcilloso o arenoso arcilloso. (Ver Tabla 4).

En el caso de la longitud del hipocotilo, los resultados se muestran en la Tabla 12 al igual que la longitud de radícula y la germinación se tomaron los extractos de mayor concentración ya que las diluciones presentaron mayor dispersión en los resultados (Ver apéndice E).

Tabla 12. Longitud del hipocotilo (cm) en concentración al 10% p/v de suelo para semillas de rabanito en las muestras y zona control.

			1	2	3	
CONTROL	INDUSTRIA	A	* 2,97	* 3,39	* 2,73	CONTROL NEGATIVO
			** 50,08	** 22,86	** 32,70	
* 2,00		B	* 3,03	* 3,28	* 0,72	* 3,60
** 50,31			** 46,47	** 37,92	** 26,29	
		C	* 2,03	* 1,28	* 1,87	** 35,21
			** 44,11	** 29,74	** 55,91	

El primer valor (*) corresponde a la longitud del hipocotilo y el segundo (**) a su coeficiente de variación (%). Para las secciones 1, 2 y 3 los coeficientes de variación fueron de 20,95, 44,82 y 56,87 (%) respectivamente.

La Tabla 12 muestra que la longitud de hipocotilo en la mayoría de las zonas se mantuvo ligeramente por debajo de la longitud obtenida en el control negativo y en donde se observó mayor diferencia fue en las zonas (3C, 2C y 3B) con características de ensortijamiento en el hipocotilo para la última (3B), lo que probablemente sean afectados por la presencia de metales como el Pb y el Cr considerando que el hipocotilo es una parte sensible ante la presencia de agentes externos durante el desarrollo de la plántula.

Estos resultados coinciden con Munzuroglu *et al* (2002) donde indicó que la raíz y la longitud del hipocotilo o coleóptilo también se redujo con concentraciones crecientes de metales.

La Tabla 13 muestra el índice de germinación (IG) calculado para cada sección tomando en cuenta la germinación y la elongación de la radícula (ver Ec 4). Este parámetro es más completo al momento de evaluar la toxicidad dado que según Varnero *et al.* (2007) es un indicador más completo para describir el potencial fitotóxico, ya que integra el porcentaje de germinación relativo y el crecimiento relativo de raíces.

Emino y Warman (2004) señalan que valores de $IG \geq 80 \%$ indican que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración; si el $IG \leq 50 \%$ indica que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas y si se obtiene un valor entre 50% y 80% se interpreta como la presencia moderada de estas sustancias.

Tabla 13. Índice de germinación (%) en concentración al 10% p/v de suelo para semillas de rabanito en las muestras y zona control.

			1	2	3	
CONTROL	INDUSTRIA	A	94,46	84,56	41,58	CONTROL NEGATIVO
32,36		B	72,36	100,73	63,15	100
		C	71,03	31,88	40,92	

Para las secciones 1, 2 y 3 los coeficientes de variación fueron de 16,6, 49,73 y 26,05 (%) respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos decir que las zonas (C, 2C, 3C y 3A) poseen una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas ya que su $IG \leq 50$, esto coincide con la elevada cantidad de metales disponibles en esas zonas. (Ver Tabla 4).

Las zonas (1A, 2A, y 2B) poseen $IG \geq 80$ lo que indican que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración bajo esas condiciones y características físicas, químicas y biológicas del suelo. Por lo que los metales disponibles encontrados en esas zonas no se consideran tóxicos para el desarrollo de las plantas.

En el resto de las zonas (1B, 1C y 3B) los valores de IG se encuentran entre 50 % y 80 % y se interpreta como la presencia moderada de sustancias fitotóxicas probablemente como consecuencia de algún proceso puntual de contaminación.

La Tabla 14 indica mediante el P-valor si existe diferencias significativas con un 95% de confianza ($P < 0,05$) entre los valores de las

Tablas 10, 11 y 12 de porcentaje de germinación, elongación de radícula e hipocotilo. En el apéndice F se especifica el ANOVA aplicado.

En la Tabla 14, los valores con asterisco se encuentran por debajo del p-valor, indicando en general que en las zonas más próximas a la disposición de residuos de la industria, la diferencia en cuanto a porcentaje de germinación, longitud de radícula y/o longitud de hipocotilo fue estadísticamente significativa con un 95% de confianza en comparación con la zona control.

Tabla 14. P- valor del análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de germinación, elongación de radícula e hipocotilo de las diferentes muestras al 10% p/v.

ZONA	Porcentaje de germinación	Longitud de radícula	Longitud de hipocotilo
1A	0,0038 *	0,1074	0,0903
1B	0,0254 *	0,0130 *	0,0612
1C	0,0246 *	0,0085 *	0,9407
2A	0,0061 *	0,0367 *	0,0003 *
2B	0,0005 *	0,0172 *	0,0085 *
2C	1,0000	0,7874	0,1229
3A	0,6130	0,0848	0,0938
3B	0,0577	0,6753	0,0006 *
3C	0,5614	0,8116	0,7863

* Valores por debajo del P-Valor.

4.5. Índice de toxicidad del suelo por medio de la germinación de semillas de rabanito.

Para establecer el índice de toxicidad se emplea la curva de dosis respuesta con las diluciones de las muestras mediante el porcentaje de inhibición en función de la concentración indicando la que causa letalidad del 50% de la población (CL_{50}) considerando esto como toxicidad pesada de acuerdo con Tiquia (2000), y la concentración que causa inhibición del 50% de la población en cuanto a la elongación de la radícula (CE_{50}) y siendo esta la toxicidad baja.

Se toma la concentración al 50% de la población ya que la germinación debe estar por sobre el 50% para considerar que no produce efectos negativos sobre las plántulas (Sobrero y Ronco 2004).

En nuestro caso no se logro establecer este índice de concentraciones letales puesto que no existe una tendencia lineal en relación a la concentración del lixiviado puro y sus diluciones, sin embargo para los controles positivos si es posible establecer esta relación ya que se parte directamente de las sales del metal y los resultados son mas precisos.

La Tabla 15 muestra la tendencia de los controles positivos a diferentes concentraciones desde 10% p/v para el mas concentrado, considerando las mismas diluciones que en las muestras para compararla con la concentraciones letales e inhibitorias del metal en los bioensayos con semillas de rabanito.

Las tendencia de la curva en los cuatro controles positivos en nuestro caso no es sigmoideal sino que tiene tendencia polinomial de orden 2 por la no interpolación de la curva hacia el eje de las concentraciones negativas como describe Díaz *et al.* (2004) (Ver Figura 1).

Tabla 15. Tendencia de los controles positivos en relación a la inhibición de la germinación y del crecimiento de la radícula.

CONTROL POSITIVO	% INHIBICION EN LA GERMINACION	% INHIBICION EN LA RADICULA
Pb(NO ₃) ₂	<p>control positivo de Pb</p>	<p>control positivo Pb</p>
FeSO ₄ ·7H ₂ O	<p>control positivo de Fe</p>	<p>control positivo Fe</p>
CrCl ₃ ·6H ₂ O	<p>control positivo de Cr</p>	<p>control positivo Cr</p>
ZnCl ₂	<p>control positivo de Zn</p>	<p>control positivo Zn</p>

* La línea color negro indica la tendencia de la curva.

En base en las curvas de controles positivos por medio del método gráfico se estimaron los valores de la CL_{50} y la CE_{50} cuyos resultados se aprecian en la Tabla 16.

Tabla 16. Concentración letal e inhibitoria del 50% de la población en controles positivos de bioensayos con semillas de rabanito.

CONTROL POSITIVO	Concentración letal del 50% de población (CL_{50}) % p/v	Concentración inhibitoria del 50% de radícula (CE_{50}) % p/v
Pb(NO₃)₂	0,55	0,075
FeSO₄.7H₂O	0,25	0,04
CrCl₃.6H₂O	0,21	0,041
ZnCl₂	0,63	0,037

Como se observa en la Tabla 16 hay una toxicidad pesada a concentraciones superiores a 0,3% p/v ya que se produce inhibición en la germinación de las semillas de rabanito por la presencia de Cr y Fe y superiores a 0,5% para el Pb y Zn. La inhibición demuestra ser más sensible en la elongación de la radícula puesto que estas se inhiben a concentraciones mucho menores que la germinación aproximadamente concentraciones superiores a 0,04% p/v.

4.6. Coeficiente de correlación de Pearson

Las correlaciones se realizaron por medio del programa estadístico statgraphics para métodos multivariados, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Correlaciones de Pearson para las propiedades físicas, químicas y biológicas y los metales disponibles.

Resumen Estadístico								METALES
	CIC	BT	pH	Humedad	CE	MOT	BM	
Recuento	10	10	10	10	10	10	10	10
Promedio	6,59	1,834	8,152	15,086	6,607	1,13	11,791	43,135
Desviación Estándar	4,13433	1,62323	0,978886	5,41055	3,03201	1,27235	7,09007	13,5273
Coefficiente de Variación	62,7365%	88,5076%	12,0079%	35,8647%	45,8908%	112,597%	60,1312%	31,3604%
Mínimo	3,76	0,22	6,66	8,08	3,39	0,27	1,36	33,34
Máximo	15,37	4,44	9,25	26,77	13,08	4,47	22,78	71,7
Rango	11,61	4,22	2,59	18,69	9,69	4,2	21,42	38,36
Sesgo Estandarizado	2,18045	1,06907	-0,262021	1,2846	2,02104	3,07488	-0,230589	2,16488
Curtosis Estandarizada	1,00368	-0,745402	-1,05638	0,897028	1,02921	3,98413	-0,393594	0,958925

Correlaciones								
	CIC	BT	pH	Humedad	CE	MOT	BM	METALES
CIC		-0,5205 (10)	-0,6252 (10)	0,4662 (10)	-0,0804 (10)	0,7646 (10)	0,4627 (10)	0,5814 (10)
		0,1230	0,0533	0,1744	0,8252	0,0100	0,1781	0,0779
BT	-0,5205 (10)		0,8261 (10)	-0,4859 (10)	-0,3896 (10)	-0,4595 (10)	-0,0078 (10)	-0,3971 (10)
	0,1230		0,0032	0,1545	0,2657	0,1815	0,9830	0,2558
pH	-0,6252 (10)	0,8261 (10)		-0,2661 (10)	-0,4890 (10)	-0,6680 (10)	-0,3543 (10)	-0,4988 (10)
	0,0533	0,0032		0,4574	0,1515	0,0348	0,3152	0,1422
Humedad	0,4662 (10)	-0,4859 (10)	-0,2661 (10)		0,1660 (10)	-0,0786 (10)	-0,1208 (10)	-0,3108 (10)
	0,1744	0,1545	0,4574		0,6468	0,8291	0,7395	0,3821
CE	-0,0804 (10)	-0,3896 (10)	-0,4890 (10)	0,1660 (10)		-0,0542 (10)	-0,4371 (10)	-0,1334 (10)
	0,8252	0,2657	0,1515	0,6468		0,8818	0,2065	0,7132
MOT	0,7646 (10)	-0,4595 (10)	-0,6680 (10)	-0,0786 (10)	-0,0542 (10)		0,5656 (10)	0,8697 (10)
	0,0100	0,1815	0,0348	0,8291	0,8818		0,0884	0,0011
BM	0,4627 (10)	-0,0078 (10)	-0,3543 (10)	-0,1208 (10)	-0,4371 (10)	0,5656 (10)		0,3662 (10)
	0,1781	0,9830	0,3152	0,7395	0,2065	0,0884		0,2980
METALES	0,5814 (10)	-0,3971 (10)	-0,4988 (10)	-0,3108 (10)	-0,1334 (10)	0,8697 (10)	0,3662 (10)	
	0,0779	0,2558	0,1422	0,3821	0,7132	0,0011	0,2980	

Correlación
(Tamaño de Muestra)
Valor-P

Esta tabla muestra las correlaciones momento producto de Pearson, entre cada par de variables. El rango de estos coeficientes de correlación va de -1 a +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. También se muestra, entre paréntesis, el número de pares de datos utilizados para calcular cada coeficiente. El tercer número en cada bloque de la tabla es un valor-P que prueba la significancia estadística de las correlaciones estimadas. Valores-P abajo de 0,05 indican correlaciones significativamente diferentes de cero, con un nivel de confianza del 95,0%. Los siguientes pares de variables tienen valores-P por debajo de 0,05: CIC y MOT, BT y pH, pH y MOT, MOT y METALES.

Los resultados de nuestro estudio arrojaron que solo la materia orgánica total pose correlación positiva significativa ($P= 0,0011$) con los metales.

En la Tabla 18 se muestra la correlación de Pearson para el índice de germinación y los metales disponibles.

Los valores de correlación muestra que es estadísticamente significativa ($P<0,05$) para el Pb con el índice de germinación, sin embargo, para todos los metales el valor negativo indica que la relación es inversamente proporcional entre el índice de germinación y la cantidad de metales disponibles por lo que a mayor concentración de metales disponibles menor será el índice de germinación de las plantas de rabanito.

Tabla 18. Correlaciones de Pearson para los parámetros estudiados.

correlaciones	Indice de germinacion	Porecentaje de germinacion	Longitud de Radicula cm	Longitud de hipocotilo cm
Metales Disponibles	-0,7081 (10)	-0,6366 (10)	-0,5312 (10)	-0,3821 (10)
totales	0,0219	0,0478	0,1141	0,2759
Pb	-0,6672 (10)	-0,6407 (10)	-0,6336 (10)	-0,5326 (10)
	0,0351	0,046	0,0492	0,1129
Zn	-0,6278 (10)	-0,5674 (10)	-0,5374 (10)	-0,3648 (10)
	0,052	0,0871	0,1092	0,3001
Cr	-0,6309 (10)	-0,6973 (10)	-0,7823 (10)	-0,5537 (10)
	0,0505	0,025	0,0075	0,0968
Fe	-0,4286 (10)	-0,293 (10)	-0,0624 (10)	0,1052 (10)
	0,2165	0,4114	0,8641	0,7724

Correlación
(Tamaño de Muestra)
Valor-P

4.7. Normativas ambientales en contenido de metales.

De acuerdo con la normativa venezolana en el artículo 65 del decreto 2635 (Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos), indica que para lixiviados de suelo la concentración máxima permisible para Cromo, Níquel y plomo es de 5 mg/L por lo que ninguna de las muestras se excede de este limite. (Ver Apéndice B Tablas 30-35)

En la Tabla 19 se muestran los valores máximos permitidos de metales según Kloke (1980) que se han empleado en diversos países como Holanda, Austria, Canadá, Japón y Estados Unidos.

Tabla 19. Concentraciones máximas permisibles de metales en suelo.

	Intervalo de contenido normal	Limites maximos permitidos
Elementos	ppm	
Cadmio	0.1-1.0	3
Cobalto	1-10	50
Cromo	2-50	100
Cobre	1-20	100
Niquel	2-5	50
Plomo	0,1-20	100
Cinc	3-50	300

En la Tabla 20 se indican los valores máximos permisibles de acuerdo con el real decreto de España nº 9/2005 para metales en suelos de uso agrícola.

Tabla 20. Valores máximos permisibles de metales en suelos de uso agrícola

Elemento	1		PN	AI
	<7	>7		
As	<20		>100	>300
Cd	<2	<3	>15	>30
Co	<20	<50	>300	>400
Cr	<100		>500	>1000
Cu	<50	<100	>500	>1000
Hg	<1		>15	>30
Mo	<10		>200	>500
Ni	<40	<50	>500	>750
Pb	<100	<200	>1000	>2000
Se	<2		>20	>30
Sn	<20		>300	>500
Tl	<1		>10	>30
Zn	<200	<300	>1000	>3000

Fuente: (Galán y Romero 2008). (1) Los valores se expresan para metales totales en (mg/kg). (PN) = Valor de intervención para parques naturales y zonas forestales.; (AI) = Valor de intervención para áreas industriales; (<7) = pH 5-7; (>7) = pH

Para el hierro, uno de los metales con mayor proporción en las muestras, no se encontró normativa ambiental que estipule los niveles máximos permisibles ni en suelos ni en sus lixiviados a nivel nacional e internacional.

De acuerdo con las concentraciones calculadas para cada uno de los metales disponibles en los lixiviados de las muestras no se encontraron niveles superiores a los máximos permisibles por las normativas ambientales nacionales e internacionales (Ver Apéndice B Tablas 30-35).

4.8. Analisis de conglomerados

Como el estudio de suelo y de germinación presenta múltiples variables, se realizó un análisis de conglomerados agrupando a zonas cuyas características se asemejan con una o más de las variables estudiadas.

La Tabla 21 y Figura 10 describe el conglomerado realizado por zonas para agrupar similitudes en los resultados de propiedades físicas, químicas y biológicas y contenido de metales disponibles.

Tabla 21. Analisis de conglomerados para similitud en propiedades físicas, químicas y biológicas y contenido de metales disponibles.

ZONA	pH (1:1)	CIC (cmol/kg suelo)	BT (cmol/kg suelo)	HUMEDAD (%)	CE (mOhms)	MOT (%)	BM (mgC/kg suelo)	METALES * (mg/kg suelo)
1A	9,14	4,27	4,44	12,46	4,73	0,73	14,3	35,24
1B	9,25	4,01	4,07	8,08	3,39	0,39	14,3	37,29
1C	9,12	4,58	3,79	13,47	5,27	0,49	14,24	38,65
2A	8,31	3,85	1,48	16,11	11,11	0,27	1,36	36,54
2B	9,13	3,76	1,37	18,49	5,02	0,29	1,36	34,51
2C	7,97	6,48	1,05	9,58	5,58	1,53	8,86	64,37
3A	7	5,11	1,01	14,87	13,08	0,9	7,5	36,11
3B	7,41	5,43	0,29	19,05	5,73	0,55	19,93	33,34
3C	7,53	15,37	0,62	26,77	6,04	1,68	13,28	43,6
C	6,66	13,04	0,22	11,98	6,12	4,47	22,78	71,7

Fuente: Duran 2011. * Resultados de esta investigación.

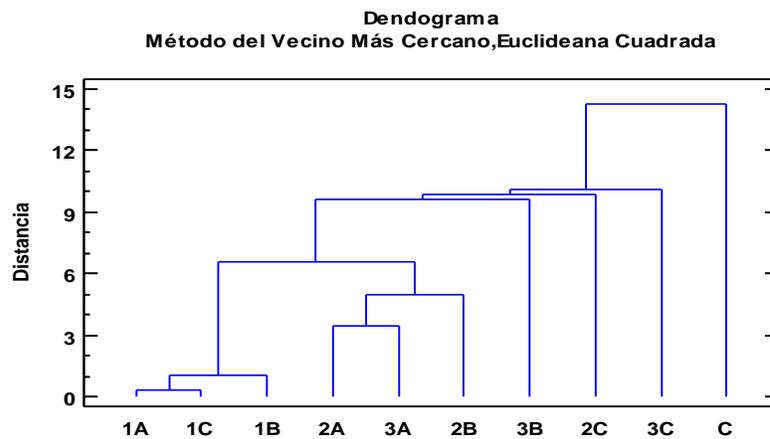


Figura 10. Analisis de conglomerados para similitud en propiedades físicas, químicas y biológicas y contenido de metales disponibles.

La Tabla 22 y Figura 11 describe el conglomerado realizado por zonas para agrupar similitudes en los resultados de porcentaje de germinación, índice de germinación, elongación de la radícula e hipocotilo y contenido de metales disponibles.

Tanto en la Figura 10 como en la 11 se puede observar como se agruparon las muestras de acuerdo a los diferentes parámetros estudiados, siendo las zonas mas alejadas de la disposición de la escoria (2C y 3C) las que se asemejan más a la zona control. Y la zona (1) las que se asemejan mas entre si.

Tabla 22. Analisis de conglomerados para similitud en porcentaje de germinación, índice de germinación, elongación de la radícula e hipocotilo y contenido de metales disponibles.

SECCION	GERMINACION (%)	LONGITUD DE RADICULA (cm)	LONGITUD DE HIPOCOTILO (cm)	INDICE DE GERMINACION (%)	METALES DISPONIBLES TOTALES (mg/kg)
1A	83,33	5,39	2,97	94,46	35,24
1B	66,67	6,93	3,03	72,36	37,29
1C	65	6,36	2,03	71,03	38,65
2A	76,67	6,88	3,39	84,56	36,54
2B	90	6,88	3,28	100,73	34,51
2C	30	3,68	1,28	31,88	64,37
3A	40	5,75	2,73	41,58	36,11
3B	40	2,9	0,7	63,15	33,34
3C	36,67	2,91	1,87	40,92	43,6
C	30	3,3	2	100	71,7

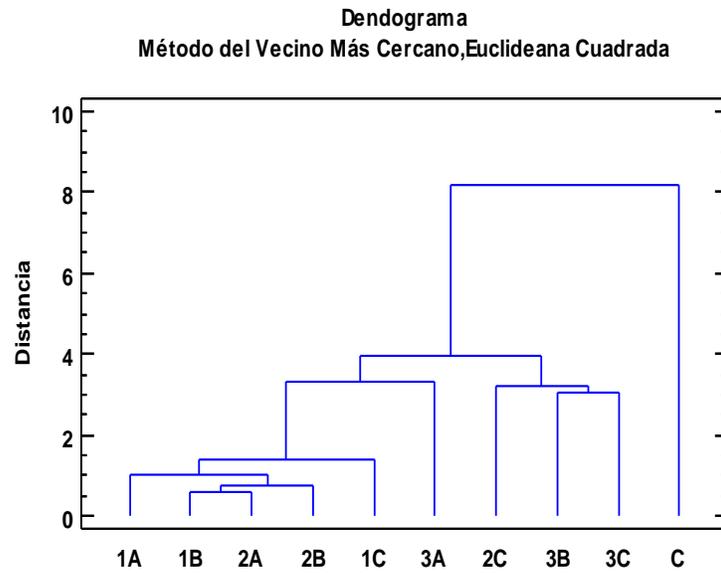


Figura 11. Analisis de conglomerados para similitud en porcentaje de germinación, índice de germinación y elongación de la radícula e hipocotilo.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El metal que se encontró en mayor proporción en las muestra fue el hierro (Fe), seguido por zinc (Zn), plomo (Pb) y cromo (Cr) en el orden descrito.
- La zona con mayor contenido de metales totales disponibles fue la zona control (C), seguido por la zona 2C y 3C en orden decreciente.
- La materia orgánica total (MOT) posee una correlación significativamente positiva ($P < 0,05$) con el contenido de metales disponibles con un 95% de confianza.
- El bioensayo con semillas de rabanito se ajusto mejor a los requerimientos de un ensayo de toxicidad a las condiciones del laboratorio por descarte con la matriz de criterios ponderados.
- Existe diferencia significativa con un 95% de confianza entre el porcentaje de germinación de las zonas (1A, 1B, 1C, 2A y 2C) y la zona control (C).
- El índice de germinación presento correlación significativa ($P < 0,05$) en relación al contenido de plomo en las muestras.
- La concentración que causa letalidad del 50% de la población fue de $(0,4 \pm 0,2)$ % p/v. Siendo esta la toxicidad pesada en los controles positivos de Pb, Fe, Cr y Zn.

- La concentración que causa inhibición en la radícula del 50% de la población fue de $(0,05\pm 0,01)$ % p/v. Siendo esta la toxicidad baja en los controles positivos de Pb, Fe, Cr y Zn.
- Todos los metales disponibles analizados se encontraron por debajo de la concentración máxima permisible para cada elemento de acuerdo con las normativas ambientales nacionales e internacionales.
- Las secciones C, 2C y 3C se agruparon de forma similar de acuerdo con sus características físicas, químicas, biológicas, de germinación, elongación y contenido de metales al igual que la sección 1A, 1B y 1C.

5.2. Recomendaciones

- Realizar el estudio de metales totales en las zonas muestreadas y compararlo con el contenido de metales disponibles.
- Evaluar la cantidad de metales en horizontes de mayor profundidad para descartar la acumulación de metales tóxicos en el subsuelo por lixiviación.
- Evaluar el impacto de los metales disponibles en otras especies y compararlo con los resultados obtenidos en plantas.
- Reutilizar la escoria en el proceso de fabricación de cerámicos o bloques de cemento para disminuir su volumen.
- Determinar el contenido de metales disponibles en los lixiviados que se colocan en contacto con las semillas de rabanito.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Adriano, D.C.** (1986). Trace elements in the terrestrial environment. Springer- Valag. 533 pp.
- **Aguilar y Bustillo,** (2011). Evaluación de los niveles de toxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburo liviano ubicado en la zona de Yaracal- Edo Falcón. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero en Química. Universidad de Carabobo. Venezuela.
- **Angle, J. R, Heckman,** (1997). Effect of soil pH and sewage sludge on VA mycorrhizal infection of soybeans. Plant Soil 93. 437-441.
- **Bautista A., Etchevers J. Del Castillo R., y Gutierrez C.** (2004). La Calidad de l Suelo y sus indicadores. Ecosistemas. 13. 90-97.
- **Brantley, S.L.; Goldhaber, M.B. y Ragnarsdottir, K.V.** (2007). Crossing Disciplines and scales to understand the critical zone. Elements, 3, 307-314.
- **Burt. R., Wilson, M.A., Keck. T.J., Dougherty. B.D., Strom. D.E., Lindahl. J.A.** (2003). Trace element speciation in selected smelter-contaminated soils in Anaconda and Deer Lodge Valley, Montana, USA. Advances in environmental research. 8: 51-67 pp.
- **Cox, G., y Tinker, P.,** (1976) Translocation and transfer of nutrients in vesicular - arbuscular mycorrhizal. New Phytol 77, 371-378.
- **Díaz, M., Ronco, A. y Pica, Y.** (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Publicación en línea

disponible en: http://www.idrc.ca/es/ev-66572-201-1-DO_TOPIC.html. Consultado el 5 de Enero de 2012.

- **Duelli, P. y Obrist, K.** (1998). In search of the best correlates for local organismal biodiversity in cultivated areas. *Biodivers. Conserv.* 7 297-309.
- **Duran D.** (2011). Determinación del impacto de la actividad metalúrgica sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Universidad de Carabobo. Venezuela.
- **Emino, E. y Warman, P.** (2004) Biological assay for compost quality. *Compost Science y Utilization* 12 (4): 342-348.
- **Escobar, J y Pereira, L.** (2009). Evaluación de la toxicidad de lodos procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico. Universidad de Carabobo. Venezuela.
- **Escoto, M., Fernández, J. y Martín, F.** (2007). Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). Publicación en línea disponible en: (http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V78-4N3GNNH-2&_user=10&_coverDate=05%2F25%2F2007&_alid=1037129251&_rdoc=1&_fmt=hhi&_orig=search&_cdi=5836&_sort=r&_docanchor=&view=c&_ct=1&_acct=C000000000&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=d79d3429bc11f0aae04b4472eb468cfa) Consultado el : 18 Enero 2012].

- **Fleitman J.** (2007). Evaluación integral para modelos de calidad. 1 era Edición. Editorial Pax, México. 432 pp.
- **Galán. H. E y Romero. B.A.** (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. Revista de la sociedad española de mineralogía. Macla. Noviembre 08 N° 10. 48-60 pp.
- **García I y Dorronsoro. C.** (2005). Contaminación por metales pesados. En: Tecnología de suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Documento en línea disponible en: <http://edafologia.urg.es/conta/tema15/introd.htm>. Consultado el 17 de Diciembre 2011. 10:20 AM.
- **García, A. y Fernández, A.** (1967). La lechuga: cultivo y comercialización. Tratados de especialización agrícola. Primera edición. Barcelona, España.
- **Hettiararchchi, G.M. and Pierzynski, G.M.** (2002). In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: Influence of plant growth. Journal Environmental Quality, 31:564-573.
- **Hunnemeyer, J.A. De Camino, R y Miller, S.** (1997). Analisis del desarrollo sostenible en Centroamérica. Indicadores para Agricultura y los recursos naturales IICA/GTZ. San José. Costa Rica.
- **Kabata- Pendias. A.** (2000). Trace elements in soils and plants. Third Edition. CRC- Press. Boca Raton. USA. 456 pp.
- **Kloke, A** (1980). Richwere'80 Orientierungsdaten for Tolerierbare Gesamtgehalte einiger elemente in Kulturboden, Mitt VDLUFA, H. 2, 9-11.

- **Kumar, P.B.A.N, Dushenkov, V. Motto, H y Kaskin, I.** (1995). Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science y Tecnology*. 29 (5): 1232. (7).
- **Lovley, D.R** (2000). *Environmental Microbe-Metal interactions* American Society for microbiology, Washington.
- **Mahdy A. M., Elkhatab, E.A. and Fathi, N.O.** (2007). Cadmium, Copper, Nickel, and Lead Availability in Biosolids-amended Alkaline Soils, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1: 354-363, 2007.
- **Mahler, R.L.** (2003). General overview of nutrition for field and container crops. In: Riley, L. E.; Dumroese, R. K.; Landis, T. D. *Tech Coords. National Proceeding: Forest and Conservation Nursery Associations*. 2003 June 9-12; Coeur d`Alene, ID; and 2003 July 14-17; Springfield, IL. Proc. RMRS-P-33.
- **Martinez S. M. J., Pérez S.C., Tudela, M. L., Molina R. J., Linares M.P., Navarro H. C., Vidal O. J., Barberan M. R., Mantilla, W., Tovar F. P. J., Solano M. A. M., Marimon S. J., Agudo J. I., Hernandez P. C.** (2005). Desertificación: Monitorización mediante indicadores de degradación química. Programa de iniciativa comunitaria INTERREG IIIB ESPACIO MEDOCC. Proyecto Desernet. Acción piloto Región de Murcia. Ed. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente.
- **Miller. N. J y Miller. J. C.** (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4ta Edición. Prentice Hall. Madrid. 296pp.
- **Newman, M.C. & Jagoe, C.H.** (1994). Inorganic toxicants-ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. In *Bioavailability-Physical, Chemical, and Biological Interactions*, SETAC Spec. Pub.

Series, J.L. Hameling, P.F. Landrum, H.L. Bergman & W.H. Benson, eds. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., 39-61 pp.

- **Noguera, S** (2010). Evaluación preliminar de metales en muestras de suelos impactados por derrames de crudo, en la zona de Yaracal-estado Falcón. Artículo científico Avances en Química, 5(3), 167-175. Documento en línea disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/933/93315850005.pdf>.
- **Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos.** (Gaceta Oficial Extraordinaria No 5245 del 3 de agosto de 1998) DECRETO 2635. Rafael Caldera Presidente de la Republica. Texto en línea disponible en: <http://www.webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/jmayorga/decreto%202635%20materiales%20peligrosos%20venezuela.pdf>. Consulta 11 de Abril 2012.
- **Pineda, H.R.** (2004). Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares y Contribución de Glomus Intraradices en la Absorción y Translocación de Cinc y Cobre en Girasol (Helianthus Annuus L.) Crecido en un Suelo Contaminado con Residuos de Mina. Tesis para Obtener el Grado de Doctor en Ciencias Universidad de Colima. Tecoman, Colima. Documento en línea disponible en: http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rosario%20Pineda%20Hernandez%20doctorado.pdf. Consultado el 19 de marzo 2012.
- **Quijorna, N; San Miguel, G; Andres, A.** (2011) Incorporation of Waelz Slag into Commercial Ceramic Bricks: A Practical Example of Industrial Ecology. INDUSTRIAL & ENGINEERING CHEMISTRY RESEARCH 50 (9): 5806-5814.

- **Reichman, M. S.** (2002). The Responses of plants to metal toxicity. A review focusing on copper, manganese and zinc. Australian Minerals and Energy Environment Foundation. 54pp.
- **Rivera, M. y Trujillo, A.** (2004). Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleo nuevo e interperizado mediante ensayos con leguminosas. Revista de ciencia y tecnología de América 23(6).
- **Roane, T.M. Perpper, M.** (1996) Microbial remediations of metals. In Craford, L; Ronoland y Cfawford L., Don (Ed) Biorremediation Principles and applications. 312-340.
- **Rodríguez O., J.C., Rodríguez, F.H., Lira R.G., De la Cerda, JM., Lara M., J.L.** (2006). Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos Contaminados. Revista Fitotecnia Mexicana, 29:239-245.
- **S. E. Ratto y Buffa E. V.** (2005) Disponibilidad de zinc, cobre, hierro y manganese extraíble con DTPA en suelos de Córdoba (Argentina) y variables edáficas que la condicionan. Ci. Suelo (Argentina) 23 (2) 107-114.
- **Sauquillo, A., Rigol, A. and Rauret, G.** 2003. Overview of the use of Leaching Extraction Tests for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments. Trends in Analytical Chemistry, 22: 152-159.
- **Skoog, D., West, D., Holler, J. y Crouch, S.** (2005) Fundamentos de Química Analítica. Editorial Thomson. 8ª edición. México, D.F.
- **Sosa M., Puga S., Lebgue T., Quintana C., Campos A.,** (2006) Contaminación por metales pesados en suelo provocado por la industria minera. Departamento académico de biología, Universidad

Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. *Ecología Aplicada*, 5 (1,2). Documento digital disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v5n1-2/a20v5n1-2.pdf>. Consultado Marzo 22 de 2012.

- **Tiquia, S.M.** (2000) Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig-on-litter system. In: International Composting Symposium (ICS 1999). Volume II. P.R. Warman and B.R. Taylor (Editors). CBA Press, Inc., Nova Scotia, Canadá. pp. 625–647. Documento en línea disponible en: (<http://www.umd.umich.edu/casl/natsci/faculty/tiquia/publications/publications.htm>) Consultado el 20 de Enero de 2012.
- **Varnero, M. y Rojas, C.** (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*. 7 (1):28-37.
- **Volke, T, Velasco J y De la Rosa D.** (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología. México. 37-56 pp.
- **Wang, W.** (1991). Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water Air Soil Pollution*, 59:381-400.
- **Zagal, E, Sadwaka R.A.** (2007). Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía Chilla. Chile. 48pp.

APÉNDICE

Apéndice A. Datos de patrones para la determinación de metales disponibles.

Tabla 23. Preparación de soluciones madres y patrones para la determinación de metales disponibles.

elemento	Pm	sales	Pm	rango de conc. [ppm]	longitud (nm)	SM [ppm]	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	alícuota (ml)	masa real SM	conc. Real SM (ppm)	conc. Real patron (ppm)
Ni	58,71	NiSO ₄ ·6H ₂ O	262,4	0,3-10	232	100	0,3	0,30			0,30
						Vol SM (L)	0,5	0,50			0,50
						1	1	1,00			1,00
						masa de sal (g)	3	3,00			3,00
						0,4469	5	5,00	0,4469	100,0	5,00
Pb	207,1	Pb(NO ₃) ₂	331,1	0,5-50	283,3	200	0,5	0,25			0,500
						Vol SM (L)	1	0,50			1,000
						1	2	1,00			2,001
							4	2,00			4,002
							6	3,00			6,003
						masa de sal (g)	8	4,00			8,004
						0,3197	12	6,00	0,3199	200,1	12,006
Co	58,93	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	290,9	0,5-10	240,7	100	0,5	0,50			0,499
						Vol SM (L)	1	1,00			0,999
						1	3	3,00			2,997
						masa de sal (g)	5	5,00			4,995
						0,4936	7	7,00	0,4931	99,89	6,992
Zn	65,37	ZnCl ₂	136,4	0,05-2	213,9	50	0,1	0,20			0,100
						Vol SM (L)	0,25	0,50			0,249
						2	0,5	1,00			0,499
							1	2,00			0,997
							1,5	3,00			1,496
						masa de sal (g)	2	4,00			1,995
						0,2087	6	12,00	0,2081	49,87	5,984
Mo	95,94	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	241,89	1,0-20	313,3	200	1	0,50			1
						Vol SM (L)	2	1,00			2
						1	4	2,00			4
							6	3,00			6
						masa de sal (g)	8	4,00			8
0,5043	10	5,00	0,5043	100,01	10						
Cr	51,99	CrCl ₃ ·6H ₂ O	266,49	0,2-10	357,9	100	0,2	0,20			0,2
						Vol SM (L)	0,5	0,50			0,5
						1	1	1,00			1
							3	3,00			3
						masa de sal (g)	5	5,00			5
0,5126	7	7,00	0,5126	100,00	7						
Fe	55,85	FeSO ₄ ·7H ₂ O	278,02	0,3-10	248,3	100	0,5	0,50			0,5
						Vol SM (L)	1	1,00			1
						1	3	3,00			3
						masa de sal (g)	5	5,00			5
						0,4978	7	7,00	0,4978	100,00	7

Tabla 24. Datos para la curva de calibración de Plomo.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones	(mg) Pb en patrones	Abs
0,00	Pb	0,5	0,05	0,003
		1	0,1	0,006
		2,001	0,2001	0,01
		4,002	0,4002	0,02
		6,003	0,6003	0,028
		8,004	0,8004	0,038
		12,006	1,2006	0,056

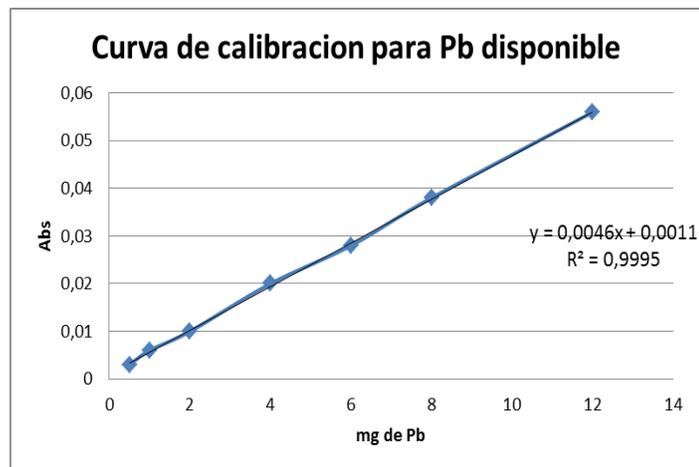


Figura 12. Curva de calibración de plomo disponible.

Tabla 25. Datos para la curva de calibración de Zn.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	(mg) Zn en patrones	Abs
-0,014	Zn	0,1	0,01	0,008
		0,249	0,0249	0,016
		0,449	0,0449	0,03
		0,997	0,0997	0,058
		1,496	0,1496	0,088
		1,995	0,1995	0,115
		5,984	0,5984	0,301

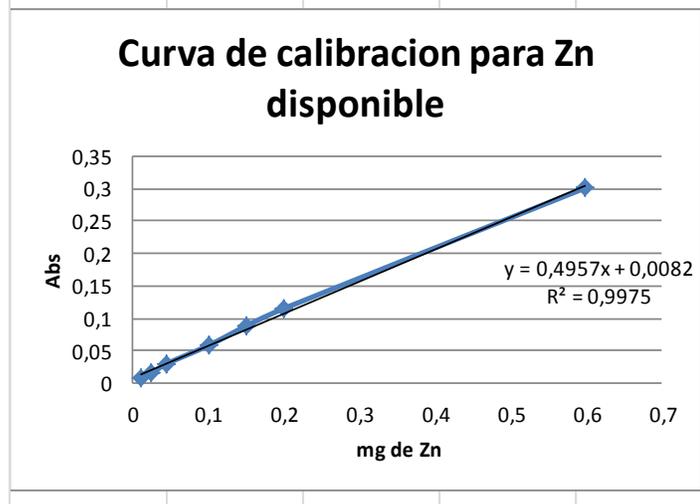


Figura 13. Curva de calibración de cinc disponible.

Tabla 26. Datos para la curva de calibración de Cromo.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	(mg) Cr en patrones	Abs
0,001	Cr	0,2	0,02	0,002
		0,5	0,05	0,005
		1	0,1	0,009
		3	0,3	0,025
		5	0,5	0,039
		7	0,7	0,059

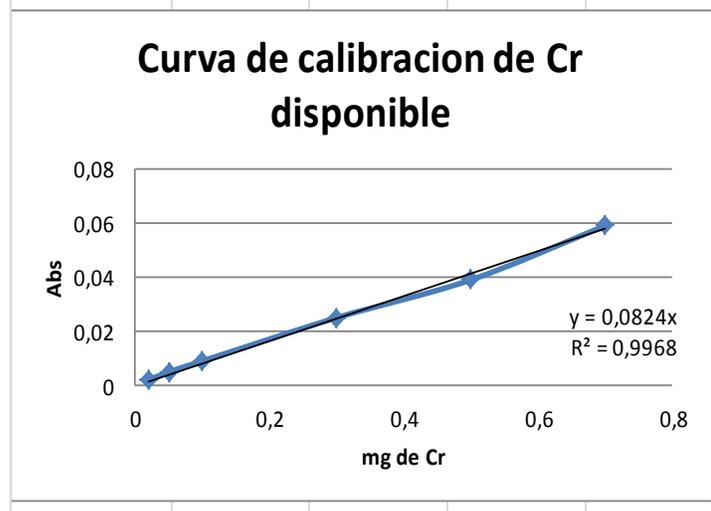


Figura 14. Curva de calibración de cromo disponible.

Tabla 27. Datos para la curva de calibración de hierro.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	(mg) Ni en patrones	Abs
-0,003	Fe	0,5	0,05	0,008
		1	0,1	0,016
		3	0,3	0,051
		5	0,5	0,083
		7	0,7	0,11

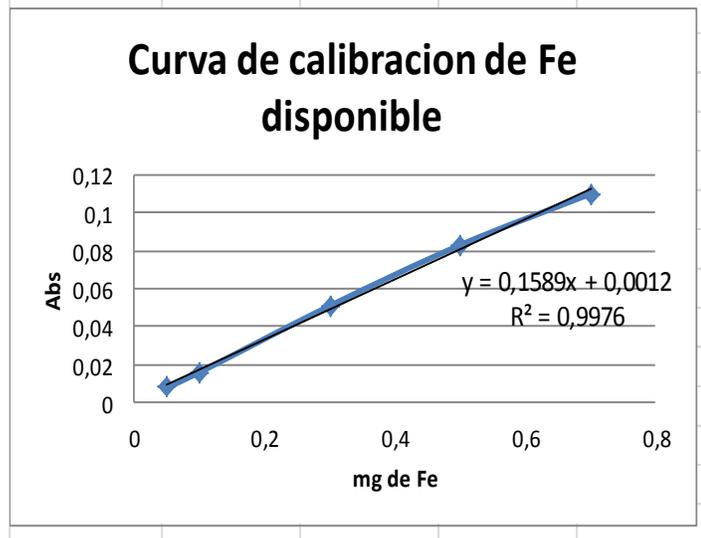


Figura 15. Curva de calibración de hierro disponible.

Tabla 28. Datos para la curva de calibración de Cobalto.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	(mg) Co en patrones	Abs
-0,001	Co	0,499	0,0499	0,01
		0,999	0,0999	0,017
		2,997	0,2997	0,049
		4,995	0,4995	0,082
		6,992	0,6992	0,113

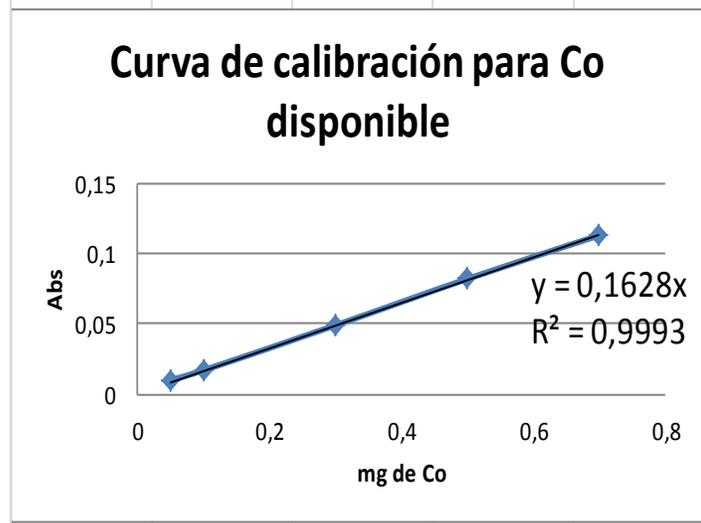


Figura 16. Curva de calibración de Cobalto disponible.

Tabla 29. Datos para la curva de calibración de Níquel.

abs blanco	elemento	Conc. (ppm) en Patrones de 100ml	(mg) Ni en patrones	Abs
-0,002	Ni	0,3	0,03	0,008
		0,5	0,05	0,013
		1	0,1	0,023
		3	0,3	0,061
		5	0,5	0,105

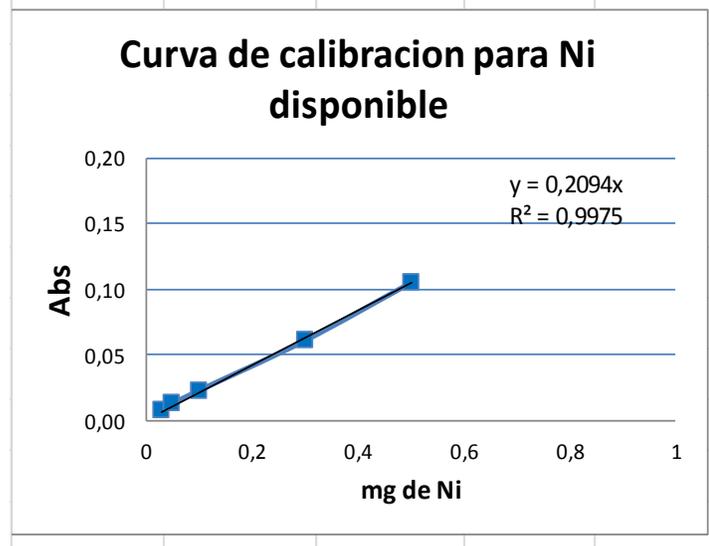


Figura 17. Curva de calibración de Níquel disponible.

Apéndice B. Datos para la determinación de metales disponibles en las muestras de suelo de Tinaquillo Edo. Cojedes.

Tabla 30. Plomo disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Pb	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Pb muestras	Concentracion (mg/L)	Concntracion (mg Pb / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	1,245	0,007	0,128820961	1,288209607	6,456187569	6,46135499	0,0050822
	2	1,224	0,007	0,128820961	1,288209607	6,461529958		
	3	1,279	0,007	0,128820961	1,288209607	6,466347447		
1B	1	0,624	0,004	0,063318777	0,633187773	3,173371233	2,80716132	0,6329938
	2	0,684	0,004	0,063318777	0,633187773	3,17186918		
	3	0,567	0,003	0,041484716	0,414847162	2,076243557		
1C	1	0,861	0,005	0,085152838	0,851528384	4,268237626	4,26942348	0,00134033
	2	0,808	0,005	0,085152838	0,851528384	4,270877688		
	3	0,946	0,005	0,085152838	0,851528384	4,269155132		
2A	1	0,817	0,005	0,085152838	0,851528384	4,260818372	4,26320859	0,00231519
	2	0,814	0,005	0,085152838	0,851528384	4,265440638		
	3	0,843	0,005	0,085152838	0,851528384	4,263366751		
2B	1	0,865	0,005	0,085152838	0,851528384	4,265613394	4,26673656	0,00098255
	2	0,91	0,005	0,085152838	0,851528384	4,267436978		
	3	0,866	0,005	0,085152838	0,851528384	4,26715932		
2C	1	3,499	0,019	0,390829694	3,908296943	19,6514243	18,560561	1,0900905
	2	3,394	0,018	0,368995633	3,689956332	18,55901377		
	3	3,263	0,017	0,347161572	3,471615721	17,47124495		
3A	1	0,96	0,005	0,085152838	0,851528384	4,26686594	4,99609643	0,63153368
	2	1,001	0,006	0,1069869	1,069868996	5,359310241		
	3	1,029	0,006	0,1069869	1,069868996	5,362113102		
3B	1	1,052	0,006	0,1069869	1,069868996	5,356780029	5,72184707	0,63248157
	2	1,147	0,006	0,1069869	1,069868996	5,356587303		
	3	1,172	0,007	0,128820961	1,288209607	6,452173871		
3C	1	1,457	0,008	0,150655022	1,506550218	7,603452833	7,60513859	0,00198192
	2	1,484	0,008	0,150655022	1,506550218	7,604641076		
	3	1,394	0,008	0,150655022	1,506550218	7,607321876		
C	1	2,374	0,013	0,259825328	2,598253275	13,3077393	13,0189272	0,62280654
	2	2,217	0,012	0,237991266	2,379912664	12,30414528		
	3	2,371	0,013	0,259825328	2,598253275	13,4448971		

Tabla 31. Zinc disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Zn	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Zn muestras	Concentracion (mg/L)	Concentracion (mg Zn / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	1,933	0,109	0,2033488	2,033487997	10,19133832	9,862176	0,4981438
	2	1,73	0,1	0,1851927	1,851926568	9,2890776		
	3	1,908	0,108	0,2013315	2,013314505	10,10611242		
1B	1	0,989	0,061	0,106516	1,065160379	5,338304765	5,200241	0,3236117
	2	0,856	0,056	0,0964293	0,964292919	4,830495977		
	3	0,966	0,062	0,1085334	1,085333871	5,431922081		
1C	1	1,784	0,102	0,1892274	1,892273553	9,484913624	9,75727	0,3827889
	2	1,798	0,103	0,1912447	1,912447045	9,59196142		
	3	1,935	0,109	0,2033488	2,033487997	10,19493405		
2A	1	1,433	0,086	0,1569498	1,56949768	7,853343088	7,824048	0,1517779
	2	1,383	0,084	0,1529151	1,529150696	7,659758192		
	3	1,458	0,087	0,1589671	1,589671172	7,959043227		
2B	1	1,091	0,069	0,1226548	1,226548316	6,144223749	6,145846	0,2023973
	2	1,131	0,071	0,1266895	1,2668953	6,349049482		
	3	1,049	0,067	0,1186201	1,186201331	5,944264643		
2C	1	3,909	0,209	0,4050837	4,0508372	20,36813522	20,03766	0,9515971
	2	3,992	0,213	0,4131531	4,131531168	20,7799597		
	3	3,583	0,195	0,3768408	3,768408311	18,96488263		
3A	1	1,215	0,076	0,1367763	1,36776276	6,853629825	6,920793	0,208618
	2	1,292	0,079	0,1428283	1,428283236	7,154719884		
	3	1,196	0,075	0,1347589	1,347589268	6,754028858		
3B	1	1,08	0,068	0,1206375	1,206374823	6,040257818	6,175498	0,5173812
	2	1,198	0,075	0,1347589	1,347589268	6,747068651		
	3	1,01	0,065	0,1145854	1,145854347	5,739168099		
3C	1	1,922	0,108	0,2013315	2,013314505	10,16105649	10,12944	0,6643592
	2	1,759	0,101	0,18721	1,872100061	9,449833697		
	3	2,068	0,114	0,2134355	2,134355457	10,77742299		
C	1	5,607	0,275	0,5382288	5,382287674	27,56701277	26,34086	1,734047
	2	4,906	0,249	0,4857777	4,857776881	25,11469995		

Tabla 32. Cromo disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Cr	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Cr muestras	Concentracion (mg/L)	Concnetracion (mg Cr / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	0,176	0,002	0,024272	0,242718447	1,216444754	1,217418	0,000957564
	2	0,208	0,002	0,024272	0,242718447	1,217451342		
	3	0,23	0,002	0,024272	0,242718447	1,21835903		
1B	1	0,195	0,002	0,024272	0,242718447	1,216441266	1,215691	0,000850664
	2	0,241	0,002	0,024272	0,242718447	1,215865487		
	3	0,239	0,002	0,024272	0,242718447	1,214766925		
1C	1	0,249	0,002	0,024272	0,242718447	1,216612417	1,419763	0,351215209
	2	0,227	0,002	0,024272	0,242718447	1,217364937		
	3	0,292	0,003	0,036408	0,36407767	1,825310914		
2A	1	0,248	0,002	0,024272	0,242718447	1,214497644	1,620352	0,351480589
	2	0,259	0,003	0,036408	0,36407767	1,823722751		
	3	0,265	0,003	0,036408	0,36407767	1,822836045		
2B	1	0,27	0,003	0,036408	0,36407767	1,823796615	1,824277	0,000420098
	2	0,28	0,003	0,036408	0,36407767	1,824576303		
	3	0,275	0,003	0,036408	0,36407767	1,824457588		
2C	1	0,315	0,003	0,036408	0,36407767	1,83062978	1,831351	0,000828902
	2	0,332	0,003	0,036408	0,36407767	1,831165977		
	3	0,346	0,003	0,036408	0,36407767	1,832256408		
3A	1	0,329	0,003	0,036408	0,36407767	1,824332151	1,824282	0,000478907
	2	0,332	0,003	0,036408	0,36407767	1,823779541		
	3	0,329	0,003	0,036408	0,36407767	1,824733358		
3B	1	0,354	0,003	0,036408	0,36407767	1,822918507	2,228255	0,351032308
	2	0,374	0,004	0,048544	0,485436893	2,430470562		
	3	0,385	0,004	0,048544	0,485436893	2,431377023		
3C	1	0,381	0,004	0,048544	0,485436893	2,449965807	2,450509	0,00063861
	2	0,398	0,004	0,048544	0,485436893	2,45034868		
	3	0,414	0,004	0,048544	0,485436893	2,45121248		
C	1	0,429	0,004	0,048544	0,485436893	2,48631174	2,502652	0,014195202
	2	0,426	0,004	0,048544	0,485436893	2,509708086		
	3	0,409	0,004	0,048544	0,485436893	2,511937209		

Tabla 33. Hierro disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Fe	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Fe muestras	Concentracion (mg/L)	Concentracion (mg Fe / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	3,092	0,05	0,307111	3,071113908	15,39166246	15,82542	1,6287939
	2	2,918	0,047	0,288232	2,882315922	14,45740707		
	3	3,54	0,057	0,351164	3,511642542	17,62717858		
1B	1	5,176	0,084	0,521082	5,210824418	26,11528683	26,30926	0,1684074
	2	5,258	0,085	0,527376	5,27375708	26,41817839		
	3	5,218	0,085	0,527376	5,27375708	26,39430897		
1C	1	4,236	0,068	0,42039	4,203901825	21,07181894	21,3931	1,1348138
	2	4,076	0,066	0,407804	4,078036501	20,45356963		
	3	4,543	0,073	0,451857	4,518565135	22,65391958		
2A	1	4,092	0,066	0,407804	4,078036501	20,40539478	20,83706	0,3738673
	2	4,218	0,068	0,42039	4,203901825	21,05801052		
	3	4,215	0,068	0,42039	4,203901825	21,04777198		
2B	1	4,008	0,065	0,40151	4,015103839	20,11310606	20,43378	0,3196911
	2	4,154	0,067	0,414097	4,140969163	20,75247902		
	3	4,078	0,066	0,407804	4,078036501	20,43576208		
2C	1	3,915	0,063	0,388924	3,889238515	19,55559606	21,67391	2,0627351
	2	4,715	0,076	0,470736	4,707363121	23,67616557		
	3	4,367	0,07	0,432977	4,329767149	21,78997577		
3A	1	4,248	0,069	0,426683	4,266834487	21,3803921	20,43389	0,9489964
	2	3,935	0,063	0,388924	3,889238515	19,48241878		
	3	4,107	0,066	0,407804	4,078036501	20,43885097		
3B	1	3,354	0,054	0,332284	3,322844556	16,63731489	17,05926	0,7313486
	2	3,334	0,054	0,332284	3,322844556	16,6367163		
	3	3,589	0,058	0,357458	3,574575205	17,90374844		
3C	1	3,937	0,063	0,388924	3,889238515	19,62871283	21,00995	1,4380138
	2	4,179	0,067	0,414097	4,140969163	20,90244574		
	3	4,438	0,072	0,445563	4,455632473	22,49870596		
C	1	3,903	0,079	0,489616	4,896161108	25,07716866	27,30395	2,4293251
	2	5,197	0,084	0,521082	5,210824418	26,93995524		
	3	5,747	0,093	0,577722	5,777218376	29,89474019		

Tabla 34. Cobalto disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Co	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Co muestras	Concentracion (mg Co / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	0,122	0,002	0,012285012	0,615694396	0,513409972	0,177603222
	2	0,093	0,002	0,012285012	0,616203873		
	3	0,043	0,001	0,006142506	0,308331646		
1B	1	0,137	0,002	0,012285012	0,615692631	0,7177872	0,177085423
	2	0,129	0,002	0,012285012	0,615401205		
	3	0,151	0,003	0,018427518	0,922267764		
1C	1	0,106	0,002	0,012285012	0,615779258	0,615950342	0,00019337
	2	0,096	0,002	0,012285012	0,61616014		
	3	0,128	0,002	0,012285012	0,615911627		
2A	1	0,141	0,003	0,018427518	0,922063322	0,717505198	0,177152595
	2	0,094	0,002	0,012285012	0,615375736		
	3	0,084	0,002	0,012285012	0,615076536		
2B	1	0,119	0,002	0,012285012	0,61540066	0,718166648	0,17776812
	2	0,113	0,002	0,012285012	0,615663748		
	3	0,144	0,003	0,018427518	0,923435536		
2C	1	0,142	0,003	0,018427518	0,926559545	0,823943229	0,178450151
	2	0,127	0,002	0,012285012	0,617887291		
	3	0,142	0,003	0,018427518	0,92738285		
3A	1	0,088	0,002	0,012285012	0,615581364	0,820749609	0,177681076
	2	0,143	0,003	0,018427518	0,923092348		
	3	0,151	0,003	0,018427518	0,923575115		
3B	1	0,16	0,003	0,018427518	0,922656542	0,922749111	0,00018981
	2	0,148	0,003	0,018427518	0,922623346		
	3	0,186	0,003	0,018427518	0,922967445		
3C	1	0,225	0,004	0,024570025	1,240031833	1,033566057	0,178804683
	2	0,189	0,003	0,018427518	0,930169216		
	3	0,185	0,003	0,018427518	0,930497121		
C	1	0,174	0,003	0,018427518	0,943821041	1,055879876	0,185730938
	2	0,213	0,004	0,024570025	1,27026994		
	3	0,174	0,003	0,018427518	0,953548646		

Tabla 35. Níquel disponible en muestras de suelos impactados por la actividad metalúrgica.

muestras Ni	replica	conc. Equipo (M)	absorbancia	mg Ni muestras	Concentracion (mg/L)	Concentracion (mg Ni / Kg suelo)	promedio	desviacion
1A	1	0,264	0,007	0,033429	0,334288443	1,675370903	1,35721	0,2755354
	2	0,184	0,005	0,023878	0,238777459	1,197683746		
	3	0,216	0,005	0,023878	0,238777459	1,198576696		
1B	1	0,163	0,004	0,019102	0,191021968	0,957352056	1,036503	0,1382368
	2	0,203	0,005	0,023878	0,238777459	1,196123641		
	3	0,164	0,004	0,019102	0,191021968	0,956034333		
1C	1	0,193	0,005	0,023878	0,238777459	1,196858443	1,197191	0,0003758
	2	0,202	0,005	0,023878	0,238777459	1,197598744		
	3	0,194	0,005	0,023878	0,238777459	1,197115722		
2A	1	0,192	0,005	0,023878	0,238777459	1,194778007	1,275109	0,3651044
	2	0,161	0,004	0,019102	0,191021968	0,956859311		
	3	0,293	0,007	0,033429	0,334288443	1,673689639		
2B	1	0,172	0,004	0,019102	0,191021968	0,956898065	1,116696	0,1383891
	2	0,197	0,005	0,023878	0,238777459	1,196633933		
	3	0,204	0,005	0,023878	0,238777459	1,196556075		
2C	1	0,256	0,006	0,028653	0,286532951	1,44072487	1,441292	0,0006524
	2	0,219	0,006	0,028653	0,286532951	1,441146863		
	3	0,219	0,006	0,028653	0,286532951	1,442005043		
3A	1	0,202	0,005	0,023878	0,238777459	1,196473808	1,116658	0,1379309
	2	0,193	0,005	0,023878	0,238777459	1,196111383		
	3	0,152	0,004	0,019102	0,191021968	0,957389549		
3B	1	0,209	0,005	0,023878	0,238777459	1,195546681	1,275397	0,1383414
	2	0,187	0,005	0,023878	0,238777459	1,195503667		
	3	0,221	0,006	0,028653	0,286532951	1,435139446		
3C	1	0,251	0,006	0,028653	0,286532951	1,446111622	1,366052	0,1388634
	2	0,244	0,006	0,028653	0,286532951	1,446337616		
	3	0,216	0,005	0,023878	0,238777459	1,205706234		
C	1	0,263	0,007	0,033429	0,334288443	1,712159278	1,473319	0,2754728
	2	0,182	0,005	0,023878	0,238777459	1,234479144		
	3	0,186	0,005	0,023878	0,238777459	1,235575609		

Apéndice C. Datos para la evaluación de controles positivos.

Tabla 36. Evaluación del control positivo de Plomo.

Metal	Concentracion (% p/v)	Longitud Radicula (cm)	% GERMINACION	Longitud Hipocotilo (cm)	Indice Germinacion (%)	% inhibicion germinacion	% Longitud Radicula	% inhibicion radicula
Pb	10	-	0	-	-	100	-	100
	5	-	0	-	-	100	-	100
	1	-	0	-	-	100	-	100
	0,5	0,6	60	1,1	72	40	8	92
	0,1	3,2	65	3,9	74,91	35	42,67	57,33
	0	7,5	90	3,6	100	10	100	0

Tabla 37. Evaluacion del control positivo de Hierro.

Metal	Concentracion (% p/v)	Longitud Radicula (cm)	% GERMINACION	Longitud Hipocotilo (cm)	Indice Germinacion (%)	% inhibicion germinacion	% Longitud Radicula	% inhibicion radicula
Fe	10		0		0	100	0	100
	5		0		0	100	0	100
	1		0		0	100	0	100
	0,5		0		0	100	0	100
	0,1	1,5	85	1,3	101,21	15	20	80
	0	7,5	90	3,6	100	10	100	0

Tabla 38. Evaluación del control positivo de Cromo.

Metal	Concentracion (% p/v)	Longitud Radicula (cm)	% GERMINACION	Longitud Hipocotilo (cm)	Indice Germinacion (%)	% inhibicion germinacion	% Longitud Radicula	% inhibicion radicula
Cr	10		0		0	100	0	100
	5		0		0	100	0	100
	1		0		0	100	0	100
	0,5		0		0	100	0	100
	0,1	1,3	75	1,6	89,33	25	17,33	82,67
	0	7,5	90	3,6	100	10	100	0

Tabla 39. Evaluación del control positivo de Zinc.

Metal	Concentracion (% p/v)	Longitud Radicula (cm)	% GERMINACION	Longitud Hipocotilo (cm)	Indice Germinacion (%)	% inhibicion germinacion	% Longitud Radicula	% inhibicion radicula
Zn	10		0		0	100	0	100
	5		0		0	100	0	100
	1		0		0	100	0	100
	0,5	0,3	80	0,7	96,61	20	4	96
	0,1	0,5	75	1	90,30	25	6,67	93,33
	0	7,5	90	3,6	100	10	100	0

Apéndice D. Datos para la evaluación de bioensayos en muestras impactadas por la actividad metalúrgica.

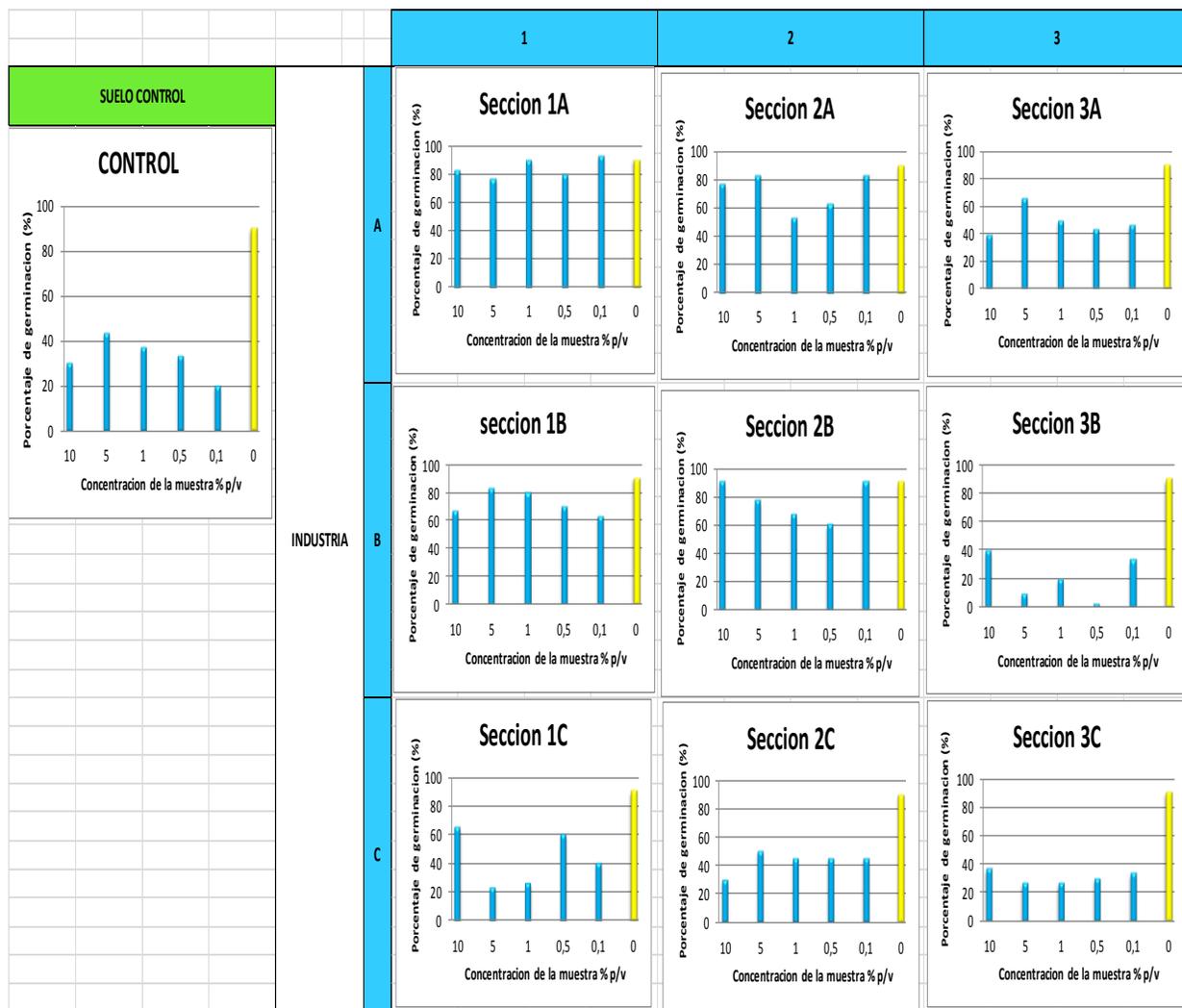
Tabla 40. Promedio de datos para la evaluación de bioensayos con semillas de rabanito.

ZONA	Concentracion % p/v	Longitud radicula (cm)	Longitud hipocotilo (cm)	Porcentaje germinacion	Indice germinacion (%)	% Inhibicion germinacion
1A	10	5,4	2,9	83,33	94,46	16,67
	5	7,7	3,6	76,67	83,60	23,33
	1	7,7	3,4	90,00	99,76	10,00
	0,5	6,7	3,2	80,00	88,85	20,00
	0,1	5,8	3,7	93,33	106,10	6,67
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
1B	10	6,9	3	66,60	72,36	33,40
	5	8,4	3,2	83,33	90,82	16,67
	1	7,9	3,2	80,00	87,39	20,00
	0,5	5,9	3,2	70,00	77,70	30,00
	0,1	6,5	2,9	63,33	68,88	36,67
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
1C	10	6,4	2	65,00	71,03	35,00
	5	1,4	1,9	23,33	26,58	76,67
	1	2,8	1,8	26,66	28,92	73,34
	0,5	5,3	3,2	60,00	66,30	40,00
	0,1	3,8	2,2	40,00	43,88	60,00
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
2A	10	6,9	3,4	76,66	84,56	23,34
	5	6,3	2,4	83,33	93,37	16,67
	1	7,4	3	53,33	55,67	46,67
	0,5	8,1	3	63,33	66,95	36,67
	0,1	7,8	3	83,33	91,55	16,67
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00

Tabla 40. Promedio de datos para la evaluación de bioensayos con semillas de rabanito. (CONTINUACION).

ZONA	Concentracion % p/v	Longitud radicula (cm)	Longitud hipocotilo (cm)	Porcentaje germinacion	Indice germinacion (%)	% Inhibicion germinacion
2B	10	6,9	3,3	90,00	100,73	10,00
	5	7,4	3,3	76,66	83,95	23,34
	1	8,2	3,7	66,66	70,86	33,34
	0,5	6,5	3	60,00	64,85	40,00
	0,1	7,5	2,8	90,00	100,00	10,00
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
2C	10	3,7	1,3	30,00	31,88	70,00
	5	7,1	2,7	50,00	52,00	50,00
	1	7,2	2,7	45,00	45,82	55,00
	0,5	3,4	2,5	45,00	50,42	55,00
	0,1	5	1,9	45,00	48,48	55,00
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
3A	10	5,7	2,7	40,00	41,58	60,00
	5	6,6	2,6	66,66	72,80	33,34
	1	6,9	3	50,00	52,24	50,00
	0,5	7,7	2,9	43,33	43,19	56,67
	0,1	6,5	2,1	46,66	48,68	53,34
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
3B	10,0	2,9	0,7	55,00	63,15	45,00
	5,0	0,4	0,9	10,00	11,64	90,00
	1,0	2,6	2,5	20,00	21,09	80,00
	0,5	2,3	1,8	3,33	1,25	96,67
	0,1	1,6	1,5	33,33	38,46	66,67
	0,0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
3C	10	2,9	1,9	36,66	40,92	63,34
	5	3,9	1,9	26,66	27,59	73,34
	1	3,1	1,8	26,66	28,56	73,34
	0,5	0,7	0,8	30,00	35,52	70,00
	0,1	1,9	1,3	33,33	38,10	66,67
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00
C	10	3,3	2	30,00	32,36	70,00
	5	3,9	2	43,33	47,79	56,67
	1	3,5	1,8	36,66	40,19	63,34
	0,5	2,4	1,3	33,33	37,49	66,67
	0,1	1,9	1,6	20,00	21,94	80,00
	0	7,5	3,6	90,00	100,00	10,00

Apéndice E. Graficas de porcentaje de germinación, índice de germinación longitud de radícula e hipocotilo a diferentes concentraciones de lixiviado.



La sección de la derecha corresponde al valor del control negativo (concentración cero)

Figura 18. Porcentaje de germinación a diferentes concentraciones de lixiviado.



La sección de la derecha corresponde al valor del control negativo (concentración cero)

Figura 19. Longitud de radícula (cm) a diferentes concentraciones de lixiviado.



La sección de la derecha corresponde al valor del control negativo (concentración cero)

Figura 20. Longitud de hipocotilo (cm) a diferentes concentraciones de lixiviado.



La sección de la derecha corresponde al valor del control negativo (concentración cero)

Figura 21. Índice de germinación (%) a diferentes concentraciones de lixiviado.

Apéndice F. Analisis de Varianza para el porcentaje de germinación, longitud de radícula e hipocotilo para las diferentes zonas evaluadas.

ANOVA

Se compararon cada zona para conocer si existen diferencias significativas con respecto a la zona control, los valores con p- valor por debajo de 0,05 poseen diferencia estadísticamente significativa con un 95% de confianza.

Tabla 41. Analisis de varianza del porcentaje de germinación, longitud de radícula e hipocotilo para las diferentes zonas de estudio a concentración de 10% p/v.

SECCION 1A

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4266,67	1	4266,67	36,57	0,0038
Intra grupos	466,667	4	116,667		
Total (Corr.)	4733,33	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	26,9607	1	26,9607	2,72	0,1074
Intra grupos	387,099	39	9,92561		
Total (Corr.)	414,06	40			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6,25225	1	6,25225	3,05	0,0903
Intra grupos	65,5904	32	2,0497		
Total (Corr.)	71,8426	33			

SECCION 1B

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2016,67	1	2016,67	12,10	0,0254
Intra grupos	666,667	4	166,667		
Total (Corr.)	2683,33	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	51,7389	1	51,7389	6,83	0,0130
Intra grupos	272,9	36	7,58056		
Total (Corr.)	324,639	37			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6,4328	1	6,4328	3,83	0,0612
Intra grupos	43,6968	26	1,68065		
Total (Corr.)	50,1296	27			

SECCION 1C

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1470,0	1	1470,0	17,64	0,0246
Intra grupos	250,0	3	83,3333		
Total (Corr.)	1720,0	4			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	38,4787	1	38,4787	8,86	0,0085
Intra grupos	73,7908	17	4,34063		
Total (Corr.)	112,269	18			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,00503497	1	0,00503497	0,01	0,9407
Intra grupos	17,7277	20	0,886385		
Total (Corr.)	17,7327	21			

SECCION 2A

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3266,67	1	3266,67	28,00	0,0061
Intra grupos	466,667	4	116,667		
Total (Corr.)	3733,33	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	60,6352	1	60,6352	4,85	0,0367
Intra grupos	324,906	26	12,4964		
Total (Corr.)	385,541	27			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	12,1806	1	12,1806	16,95	0,0003
Intra grupos	20,1181	28	0,718503		
Total (Corr.)	32,2987	29			

SECCION 2B

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5400,0	1	5400,0	108,00	0,0005
Intra grupos	200,0	4	50,0		
Total (Corr.)	5600,0	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	62,0148	1	62,0148	6,38	0,0172
Intra grupos	281,74	29	9,71517		
Total (Corr.)	343,755	30			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11,0848	1	11,0848	7,79	0,0085
Intra grupos	48,3607	34	1,42237		
Total (Corr.)	59,4456	35			

SECCION 2C

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0	1	0	0,00	1,0000
Intra grupos	200,0	3	66,6667		
Total (Corr.)	200,0	4			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,393818	1	0,393818	0,08	0,7874
Intra grupos	45,928	9	5,10311		
Total (Corr.)	46,3218	10			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,849	1	1,849	2,72	0,1229
Intra grupos	8,82833	13	0,679103		
Total (Corr.)	10,6773	14			

SECCION 3A

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	150,0	1	150,0	0,30	0,6130
Intra grupos	2000,0	4	500,0		
Total (Corr.)	2150,0	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	21,7071	1	21,7071	3,48	0,0848
Intra grupos	81,0822	13	6,23709		
Total (Corr.)	102,789	14			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,76571	1	2,76571	3,11	0,0938
Intra grupos	16,8867	19	0,888772		
Total (Corr.)	19,6524	20			

SECCION 3B

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	750,0	1	750,0	9,00	0,0577
Intra grupos	250,0	3	83,3333		
Total (Corr.)	1000,0	4			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,739251	1	0,739251	0,18	0,6753
Intra grupos	60,7655	15	4,05103		
Total (Corr.)	61,5047	16			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	8,13314	1	8,13314	17,31	0,0006
Intra grupos	8,45636	18	0,469798		
Total (Corr.)	16,5895	19			

SECCION 3C

Porcentaje de germinación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	66,6667	1	66,6667	0,40	0,5614
Intra grupos	666,667	4	166,667		
Total (Corr.)	733,333	5			

Longitud de radícula

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,440833	1	0,440833	0,06	0,8116
Intra grupos	73,6283	10	7,36283		
Total (Corr.)	74,0692	11			

Longitud de hipocotilo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0801818	1	0,0801818	0,08	0,7863
Intra grupos	19,0618	18	1,05899		
Total (Corr.)	19,142	19			

Apéndice G. Resumen estadístico de porcentaje de germinación, índice de germinación y elongación de radícula e hipocotilo a concentraciones al 10% p/v de suelo.

Tabla 42. Resumen estadístico de longitud de radícula a concentración de 10% p/v.

Radícula	1A	1B	1C	2A	2B	2C
Recuento	22	19	13	22	25	5
Promedio	5,3955	6,93158	6,36154	6,88636	6,88	3,68
Desviación Estándar	3,066	2,83609	1,70075	3,68928	3,17975	1,30843
Coficiente de Variación	56,83%	40,92%	26,73%	53,57%	46,22%	35,56%
Mínimo	1	1	3,4	1,5	1,4	2,5
Máximo	14,2	10,6	9,1	14,5	13,4	5,7
Rango	13,2	9,6	5,7	13	12	3,2
Sesgo Estandarizado	1,952	-1,29925	0,200815	0,793301	0,254376	0,918275
Curtosis Estandarizada	1,7175	0,0055796	-0,366383	-0,723572	-0,549173	0,238083
Radícula	3A	3B	3C	S Control	Control (-)	
Recuento	9	11	6	6	18	
Promedio	5,7556	2,86364	2,91667	3,3	7,54444	
Desviación Estándar	2,2914	1,4726	2,62862	2,79571	1,45449	
Coficiente de Variación	39,81%	51,42%	90,12%	84,72%	19,28%	
Mínimo	2	0,5	0,3	1	5,3	
Máximo	7,9	5,3	5,8	8	11	
Rango	5,9	4,8	550,00%	7	5,7	
Sesgo Estandarizado	-1,335	0,206057	0,0360001	0,994267	1,59621	
Curtosis Estandarizada	-0,316	-0,236267	-1,58181	0,111597	0,534862	

S control= suelo control. Control (-)= control negativo con agua reconstituida

Tabla 43. Resumen estadístico de longitud de hipocotilo a concentración de 10% p/v.

Hipocotilo	1A	1B	1C	2A	2B	2C
Recuento	25	19	13	21	27	6
Promedio	2,972	3,02632	2,03077	3,39048	3,28148	1,28333
Desviación Estándar	1,54772	1,40627	0,895716	0,77518	1,24438	0,381663
Coefficiente de Variación	52,08%	46,47%	44,11%	22,86%	37,92%	29,74%
Mínimo	0,8	0,9	1	1,2	1	1
Máximo	5,5	5,1	3,4	4,6	5,6	2
Rango	4,7	4,2	2,4	3,4	4,6	1
Sesgo Estandarizado	0,383577	-0,42709	0,317695	-2,07096	-0,639026	1,71297
Curtosis Estandarizada	-1,31634	-1,19294	-1,04836	1,97647	-0,403107	1,46136
Hipocotilo	3A	3B	3C	S Control	Control (-)	
Recuento	12	11	11	9	18	
Promedio	2,73333	0,718182	1,87273	2	3,6	
Desviación Estándar	0,893749	0,188776	1,04699	1,00623	1,2677	
Coefficiente de Variación	32,70%	26,29%	55,91%	50,31%	35,21%	
Mínimo	1,2	0,5	0,5	0,5	1,7	
Máximo	4,2	1,1	3,5	3,4	6,3	
Rango	3	0,6	3	2,9	4,6	
Sesgo Estandarizado	-0,16059	1,48818	-0,05363	-0,50425	1,22708	
Curtosis Estandarizada	-0,05467	0,198376	-0,89145	-0,57668	0,112404	

S control= suelo control. Control (-)= control negativo con agua reconstituida

Tabla 44. Resumen estadístico de porcentaje de germinación a concentración de 10% p/v.

% germinacion	1A	1B	1C	2A	2B	2C
Recuento	3	3	2	3	3	2
Promedio	83,3333	66,6667	65	76,6667	90	30
Desviación Estándar	11,547	15,2753	7,07107	11,547	0	0
Coefficiente de Variación	13,86%	22,91%	10,88%	15,06%	0,00%	0,00%
Mínimo	70	50	60	70	90	30
Máximo	90	80	70	90	90	30
Rango	20	30	10	20		
Sesgo Estandarizado	-1,22474	-0,6613	-	1,22474	-	-
% germinacion	3A	3B	3C	S Control	Control (-)	
Recuento	3	2	3	3	2	
Promedio	40	55	36,6667	30	90	
Desviación Estándar	30	7,07107	15,2753	10	14,1421	
Coefficiente de Variación	75,00%	12,86%	41,66%	33,33%	15,71%	
Mínimo	10	50	20	20	80	
Máximo	70	60	50	40	100	
Rango	60	10	30	20	20	
Sesgo Estandarizado	0	-	-0,6613	0	-	

S control= suelo control. Control (-)= control negativo con agua reconstituida

ANEXOS



Figura 22. Preparación del bioensayo con semillas de rabanito.



Figura 23. Germinación de las semillas de rabanito en la zona 1B.