

**Absorción de Cd por *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana* en tres suelos con diferentes propiedades químicas, físicas y mineralógicas.**

Por

Isabelle Giuliani Castillo

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

SUELOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO  
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ  
2011

Aprobado por:

\_\_\_\_\_  
Félix Román, Ph.D.  
Miembro del Comité Graduado.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Miguel A. Muñoz , Ph.D.  
Miembro del Comité Graduado.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Winston de la Torre, Ph.D.  
Presidente del Comité Graduado.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Dr.Erick Harmsen  
Representante de Estudios Graduados.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Hipólito O'Farrill Nieves, Ph D.  
Director Interino del Departamento de Cultivos  
y Ciencias Agroambientales

\_\_\_\_\_  
Fecha

## **Dedicatoria**

Le dedico esta investigación a mi familia por haberme apoyado e inspirado, a mis padres Joseph L. Giuliani e Isabel Castillo, por darme todos sus consejos y ayuda incondicional para alcanzar mis metas y a mis hermanos Joseph, Francois y Linnette por su amor y por ser mi motivación para seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco a Dios por haberme brindando salud y fuerza para sobrellevar los obstáculos que se presentaron. A mis padres por sus consejos y ser mi motivación. Mis abuelos que pasaron a una mejor vida y a Francisco Giuliani (papa Pancho) por ser el mejor agricultor e inspiración que a tus 91 años eres el pilar de nuestra familia.

Al Dr. Winston de la Torre por ser el presidente de mi comité, darme toda su ayuda y conocimientos durante todos estos años. Al Dr. Miguel A. Muñoz por sus consejos, aprendizaje, experiencia y confianza en mí. Al Dr. Félix Román por ser parte de mi comité, por brindarme su apoyo y conocimientos. Dra. Julia O'Hallorans por su conocimiento, su ayuda desinteresada y sincera. Al equipo de trabajo del laboratorio analítico en Rio Piedras, gracias.

Al personal del Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales: Evelyn Roselló, Gloria Aguilar, Floripe Cancel, Héctor Pino, y el Dr. Hipólito O'Farrill Nieves. A Rocío Suárez por toda su ayuda incondicional y sus consejos, Laura Bonilla por toda su ayuda en la investigación. Gracias por su apoyo en cada etapa de la investigación hasta el último día.

A mis compañeros y amigos: Lisandra Arambarry, Laura Ortiz, Jacqueline Vega, Ángel Domenech, Litza López, Ana Santos, Jessica Torres y Emanuel Feliciano por amistad, y apoyo antes, durante y después de la investigación.

A Lee Michael Brown por su amor, ayuda y estar en mi vida de una manera positiva.

A todos y cada de las personas que hicieron esto posible gracias!

## ABSTRACT

Phytoremediation is an ecologically friendly, cost effective technique that uses plants to remediate contaminated soil and water. One of the objectives in this study is to evaluate the absorption of cadmium (Cd) by two forage species *Brachiaria brizantha* and *Chloris gayana* on three soil series with different chemical, physical and mineralogical properties. The soil series that were evaluated were: San Ant3n, Coloso and Corozal. On a complete random design with a factorial arrange 2 x 3 x 4 forty-eight plants for each forage species were transplanted in a pots with different concentrations of Cd: control, 10 ppm, 50 ppm and 500 ppm. This experiment was conducted on a seven week period. The parameters studied were plant height, and the number of the leaves. On two different occasions during the experiment, the soils were fertilized and each pot was maintained at the field capacity. Chemical analysis of shoots and roots were performed to determine the total absorption of the metal showing that on roots have significant differences. Showing that *Choris gayana* at Coloso soil with 500ppm of Cd absorbs 1ppm on the roots. And on the shoots did not have significant differences in the treatments. On plants height and the number of leaves, there were no significant differences. Soil analyses were also done including a sequential extraction to determine the Cd content also showed significant differences in the soil series, indicating that Corozal soil series had more Cd in the soil.

## RESUMEN

La fitorremediación es una técnica ecológicamente amigable en la cual se utilizan plantas para remediar suelos y aguas contaminadas. Se dice que esta práctica es costo efectiva. Uno de los objetivos en este experimento fue evaluar la absorción de cadmio (Cd) por las especies de forrajes *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana* en tres series de suelos con diferentes propiedades químicas, físicas y mineralógicas. Las series de suelos que fueron evaluados fueron: San Antón, Coloso y Corozal. En un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 x 3 x 4 cuarenta y ocho plantas para cada especie forrajera fueron trasplantadas en tiestos con distintas concentraciones de Cd: control, 10 ppm, 50 ppm y 500 ppm. El experimento se desarrolló por un periodo de siete semanas y los parámetros que se estudiaron fueron: la altura de las plantas y el número de hojas. En dos ocasiones durante el experimento se fertilizó y cada tiesto se mantuvo a capacidad de campo. Análisis químicos para el vástago y raíces fueron llevados a cabo para determinar el contenido del metal mostrando que en las raíces hubo diferencias significativas. Mostrando que *Chloris gayana* en suelo Coloso con 500ppm de Cd absorbió 1 ppm en la raíz. En el vástago no hubo diferencias significativas. En la altura de la planta y en el número de hojas no hubo diferencias significativas. Análisis de suelos fueron realizados incluyendo una extracción secuencial para determinar el Cd presente en el suelo mostrando que hubo diferencias significativas en las series de suelo, la serie Corozal mostró tener mayor contenido de Cd en la muestra de suelo.

# TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ABSTRACT .....	IV
RESUMEN .....	V
TABLA DE CONTENIDO .....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABLAS.....	IX
1. INTRODUCCION .....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1 CADMIO .....	2
2.1.1 CADMIO EN EL SUELO .....	3
2.1.2.CADMIO EN PLANTAS.....	4
2.2 FITORREMEDIACIÓN.....	6
2.2.1 VENTAJAS EN LA FITORREMEDIACIÓN.....	7
2.2.2 LIMITACIONES EN LA FITOREMEDIACIÓN .....	8
2.3 PLANTAS ACUMULADORAS DE Cd .....	9
2.3.1 ELECCIÓN DE ESPECIES FITOREMEDIADORAS.....	10
2.4 PROBLEMA DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL .....	11
2.4.1. CARIBE.....	11
3.1OBJETIVOS .....	13
4. MATERIALES Y METODOS.....	14
4.1 SELECCIÓN DE LOS SUELOS.....	14
4.2 CAPACIDAD DE CAMPO.....	15
4.3APLICACIÓN DE CADMIO AL SUELO .....	17
4.4 SIEMBRA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
4.5 RECOLECCIÓN DE DATOS EXPERIMENTALES .....	20
4.6 ANÁLISIS DE SUELO .....	20
4.7ANÁLISIS DE TEJIDO.....	23
5. DISCUSION DE RESULTADOS .....	23
5.1 EFECTO EN CRECIMIENTO .....	24
5.2 EFECTO EN PESO SECO.....	28
5.3 NÚMERO DE HOJAS .....	29
5.4 PH .....	32
5.5 CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO.....	33
5.6 ANÁLISIS DE TEJIDO .....	37
5.6.1 RAÍZ .....	37
5.6.2 VÁSTAGO .....	38

5.6.3 PORCIENTO DE RECUPERACIÓN DE K Y MG EN TEJIDO .....	40
6. EXTRACCIÓN SECUENCIAL .....	43
7. CONCLUSION .....	45
REFERENCIAS .....	47

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema sobre distintos procesos de fitorremediación. ....	7
Figura 2. Bolsas para determinación de Capacidad de Campo .....	15
Figura 3. Corte de 2.5 cm del extremo superior de la muestra del suelo.....	16
Figura 4. Corte de 5 cm de la parte inferior de la muestra de suelo. ....	16
Figura 5. Aplicación de CdCl <sub>2</sub> en vasos de 120 ml. ....	17
Figura 6. Bandejas de Incubación. ....	18
Figura 7. Aplicación de agua destilada para llevar a capacidad de campo. ....	18
Figura 8. Diseño experimental .....	19
Figura 9. Plasma de Acoplamiento Inductivo.....	22
Figura 10. Plasma de Acoplamiento Inductivo con muestra de Extracción Secuencial .....	22
Figura 11. Efecto del crecimiento respecto la interacción triple .....	24
Figura 12. Crecimiento de <i>Chloris gayana</i> en suelo Coloso, San Antón y Corozal en 0 ppm y 500ppm.....	25
Figura 13. Efecto en peso seco de raíz por especie. ....	28
Figura 14. Efecto en peso seco en vástago por especie.....	28
Figura 15. Efecto del número de hojas respecto la interacción triple .....	29
Figura 16. A. Efecto en el número de hoja por serie de suelo. B. Efecto en el número de hoja por especie. C. Efecto en el número de hoja por contenido de Cd.....	30
Figura 17. Diferencias significativas entre especie, suelo y contenido de Cadmio en el número de hojas .....	31
Figura 18. Cambio en pH por serie de suelo antes y después del experimento.....	32
Figura 19. Diferencias entre medias en pH del suelo antes del experimento. ....	33
Figura 20. Diferencias entre medias en pH del suelo después del experimento.....	33
Figura 21. Efecto en interacción triple en la capacidad de intercambio de cationes (CIC). ....	34
Figura 22. Efecto de Capacidad de Intercambio en suelo.....	34
Figura 23. Cationes intercambiables por suelo. ....	35
Figura 24. Efecto en la Interacción triple en absorción de Cd en Raíz.....	37
Figura 25. Efecto de interacción triple en vástago.....	38
Figura 26. Efecto principal del suelo en la absorción del vástago.....	38
Figura 27. Efecto de especie en absorción de Cd al vástago. ....	39
Figura 28. Efecto de contenido de Cd en vástago.....	39
Figura 29. Efecto de la interacción triple en el contenido de K en raíz. ....	40
Figura 30. Efecto significativo del % de K en raíz(A) y vástago (B). ....	41
Figura 31. Porcentaje de K en vástago.....	41
Figura 32. Efecto en la interacción triple en el porcentaje de Mg en el vástago. ....	42
Figura 33. Efecto de interacción doble especie contenido de Cd raíz (A) y vástago (B). ....	43
Figura 34. Efecto en el Cd encontrado por contenido de Cd aplicado al suelo.....	44
Figura 35. Efecto en el Contenido de Cd en el suelo por especie.....	44
Figura 36. Efecto en el contenido de Cd en suelo por serie de Suelo.....	44

## **LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1. Plantas que acumulan altas concentraciones de Cd en sus tejidos.(Hung-Yu et al. 2006)..</b>	<b>9</b>
<b>Tabla 2: Características físicas y químicas de los suelos utilizados en el estudio. ....</b>	<b>36</b>

# 1.INTRODUCCION

La contaminación de suelos por metales pesados es un gran problema ambiental a nivel mundial. El cadmio (Cd) es un metal pesado encontrado en su estado natural en forma de óxido, cloruro o sulfito. Actividades agrícolas así como actividades industriales son las fuentes principales de este metal en el ambiente. Ochenta y tres por ciento del cadmio utilizado es en la producción de baterías, ocho por ciento en la producción de pigmentos, siete por ciento en manufactura de pinturas, 1.2% en estabilizadores para plásticos y 0.8% en otros usos (EPA, 2001).

El desarrollo de técnicas efectivas para disminuir la contaminación de metales pesados en el suelo, ha recibido gran atención en los últimos años. La fitorremediación es una tecnología costo efectiva y ecológicamente amigable, que utiliza plantas para remover contaminantes del suelo, de cuerpos de agua superficiales y de aguas subterráneas. También se encuentra en depósitos naturales como minerales conteniendo otros elementos. Estos son retenidos en el suelo fuertemente con poca lixiviación y muchos permanecen en el suelo por miles de años.

Por tal razón el proceso de la fitoremediación ha sido una de las mejores soluciones encontradas en los pasados años para remediar suelos contaminados. Pocos estudios han sido realizados utilizando *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana* para extraer contaminantes del suelo. Por otro lado se han encontrado especie de plantas capaces de extraer Cd bajo distintas condiciones de suelo y ambientes.

Se desea determinar cuan eficientes fueron estas especies forrajeras antes mencionadas en tres series de suelos que contienen distintas propiedades químicas, físicas y mineralógicas en distintas concentraciones de cadmio.

## **1. Revisión de Literatura**

### **2.1 Cadmio**

El Cadmio (Cd) puede causar problemas de disfunción renal, cáncer y desmineralización de los huesos en humanos (Gratao et al., 2006). Los síntomas atribuidos a un envenenamiento por Cd son desordenes en el sistema respiratorio, riñones y pulmones.

En el 1974 se aprobó una ley en la legislatura de Estados Unidos, donde se establecen los niveles seguros de contaminantes en el agua potable. La Agencia de Protección Ambiental (con sus siglas en ingles EPA) se encargan de regula los niveles de sustancias químicas nocivas en el suelo, agua y aire. La EPA ha establecido como nivel máximo de contaminante en agua potable de 5 ppb para prevenir problemas a la salud.

### 2.1.1 Cadmio en el suelo

La concentración de ciertos metales pesados en el suelo es el indicador de contaminación en este. Los límites regulatorios de Cd en suelos para la agricultura son entre  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  lo cual indica que niveles mayores de estos presentan contaminación por Cd (Salt et al., 1998). Suelos agrícolas podrían contaminarse con cadmio a través de fertilizantes fosfatados o por una mezcla de sales de calcio.

La contaminación de Cd mediante fertilizantes fosfatados varía grandemente de acuerdo a los métodos de preparación y la materia prima utilizada en la preparación de estos. El pH del suelo juega un papel importante en la absorción de metales pesados relacionado a la solubilidad del metal (Appel & Lena 2002). La solubilidad de sales de Cd disminuye a medida que el pH del suelo aumenta esto propicia a un aumento en la retención de Cd en la superficie del suelo esto propicia la absorción, complejación y precipitación. La movilidad del ion de Cd es baja cuando el pH del suelo es mayor de 7.5 y aumenta cuando el pH del suelo es de 4.5 a 5.5 (Hung-Yu et al. 2006). Suelos ácidos y lluvia ácida han contribuido en la solubilidad del Cd transformando el ion a una forma disponible. La materia orgánica del suelo puede estabilizar el Cd en la superficie.

Un estudio realizado por Appel & Lena (2002) donde se utilizó el horizonte superficial de tres suelos de Puerto Rico (Molisol, Oxisol, Ultisol), se aplicó distintas concentraciones de plomo (Pb) y cadmio (Cd) y ajustando el pH. Encontrando que la mayor absorción de plomo fue en el Oxisol y en el Ultisol, no así para el Molisol fue debido a los parámetros; alta Capacidad de Intercambio Catiónico y su alto pH. Se

encontró que la absorción dependerá de cada metal en específico que del suelo. En el caso de esta investigación se encontró que el Cd tiene mayor dependencia al pH que el Pb.

### **1.1.2. Cadmio En Plantas**

Concentraciones altas de Cd causa inhibición de crecimiento en las raíces y en los vástagos, desorganización en la clorofila en la estructura de la grana, reducción en la síntesis de la clorofila, y reduce actividades enzimáticas relacionadas en el ciclo de Calvin. Estudios relacionados al efecto en la fotosíntesis y crecimiento por distintas aplicaciones de Cd han sido investigadas por Vassiler et al. (1995), Dong et al. (2005) y Azevedo et al.(2005).

Estudios realizados por Vassiler et al. (1995) en especies de plantas *Hemus* y *Obzor* determinaron que niveles de Cd, 3 y 6 mg Cd/ L aplicado por 12 días redujo el crecimiento de las plantas así como efectos en la fotosíntesis. Se determinó que la planta *Hemus* es más susceptible que la *Obzor* respecto a los cambios en el aparato fotosintético. También observaron cambios en la estructura del cloroplasto, los tilcaoides y las granas desorganizadas lo que produjo a reducción en el crecimiento. Se observó que las especies *Hemus* y *Obzor* no fueron afectadas significativamente por el tratamiento 3 mgCd/L, en cambio en la concentración de 6 mg Cd/L si produjo una disminución en la fotosíntesis.

Dong et AL. (2005) realizaron un estudio observando el efecto en crecimiento y a la fotosíntesis en dos variedades de tomates, Aezuo 903 y Jiangshu 14 en un sistema hidropónico con 5 tratamientos de CdCl<sub>2</sub>. Se tomaron datos de altura, número de hojas por planta y observaciones fueron tomadas. Se encontró que el crecimiento fue significativamente reducido comparados con las plantas control. En cuanto de tasa de fotosíntesis se observó una reducción y un aumento en la respiración.

En otras investigaciones Acevedo et al (2005) evaluaron bajo cuatro tratamientos de Cd y su efecto por 21 días como el crecimiento y fotosíntesis de *Helianthus annuus*. Se encontró que el largo del vástago, el largo de las raíces y el contenido de clorofila disminuyeron al aumentar el contenido de Cd.

La toxicidad de Cd en la planta es causada por disturbios con la obtención de los macronutrientes y micronutrientes así como problemas con el movimiento de agua relacionados con el xilema y balances hormonales en la planta. La aparición en coloración marrón rojizo en los márgenes de las hojas y venas y clorosis en las hojas se han descrito como síntomas de toxicidad en las plantas por Cd. Se ha observado que Cd compite con la obtención Fe, Ni y Cu por la membrana plasmática llevando a una deficiencia de estos iones metálicos esenciales (Gratao et al., 2006). Las concentraciones del Cd en la mayoría de las plantas se encuentran en el siguiente orden: raíz, vástago, hoja y grano. En el caso de los órganos de la planta la vacuola es el órgano donde se encuentra mayor acumulación del Cd.

Se ha encontrado que el Cd tiene una alta movilidad por lo que ser un riesgo al ambiente. Es por tal razón que existe la necesidad de conocer cuales plantas absorben estos metales, a que cantidades lo absorbe y sus mecanismos de absorción.

## 2.2 Fitorremediación

La fitorremediación es una técnica que es considerada muy prometedora para restaurar suelos y cuerpos de agua contaminados utilizando plantas. Una ventaja de esta técnica es el bajo costo y su capacidad de implementaciones a grandes extensiones de suelo contaminado. El costo de las técnicas de fitorremediación se estima que es de 50% a 20% menor que las técnicas convencionales (EPA 2001). El éxito en la fitorremediación dependerá en la selección de especies de plantas que sean capaces de tolerar estrés de toxicidad manteniendo un crecimiento razonable, y acumular metales y en sus partes aéreas. Las plantas utilizadas en la fitorremediación deben acumular más de un 0.5% del contaminante (Hung-Yu et al. 2006).

Hay varios procesos fisiológicos que contribuyen a la efectividad de las plantas fitorremediadora. Entre estos procesos tenemos la fitoextracción en la cual se utiliza plantas para remover contaminantes del suelo, la fitovolatilización la cual utiliza plantas para transformar compuestos químicos del suelo, la rizofiltración donde las raíces de las plantas remueven contaminantes del agua y la fitoestabilización donde las plantas transforman sustancias tóxicas encontrados en una forma menos tóxica.

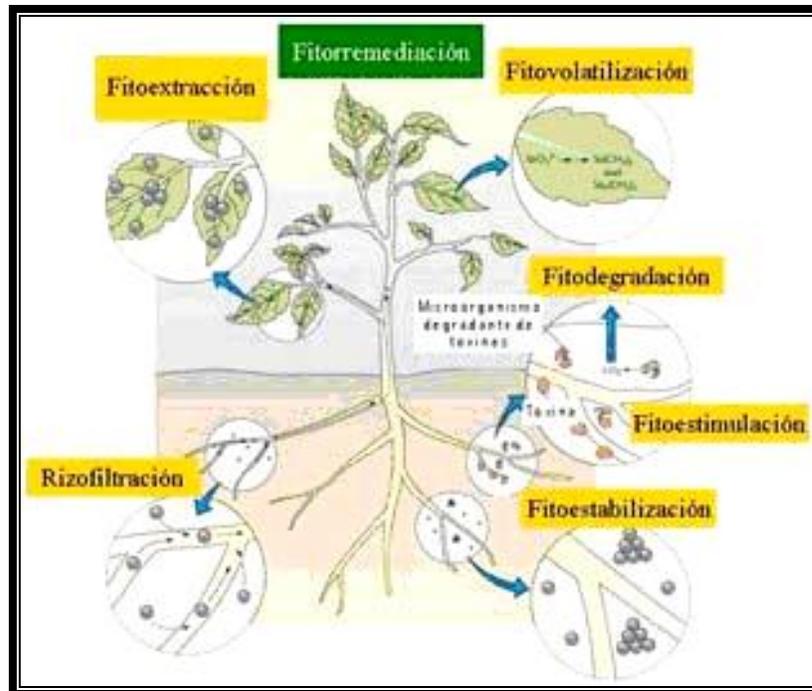


Figura 1. Esquema sobre distintos procesos de fitorremediación.

### 2.2.1 Ventajas en la Fitorremediación

Entre los beneficios que esta técnica incluye ser una de aplicación in situ, y fácil de utilizar para remoción de metales, radionuclidos y sustancias orgánicas. Es una técnica costo efectiva donde los metales son extraídos y vendidos. También es una solución permanente ya puede ser una alternativa a largo plazo.

## 2.2.2 Limitaciones en la Fitoremediación

Con todas las ventajas que tiene la fitoremediación la técnica tiene ciertas limitaciones. Se ha estimado que la fitoremediación de suelos toma entre 5 a 10 años en llevarse a cabo. Esta técnica es más lenta que procesos químicos, físicos y técnicas termales; ya que la fitoremediación requiere varias etapas de crecimiento y muerte de la planta.

Muchas de las especie de las plantas hiperacumuladoras tienden a tener preferencia por metales específicos limitando en lugares de contaminación mixta. Dichas especies no son tolerantes a condiciones climáticas, no poseen altas tasas de crecimiento y acumulación de biomasa. La eficiencia de la fitoextracción del Cd estará limitada por la cantidad de Cd acumulada en las partes cosechadas. Las plantas que se escojan para remediar deberán ser tolerantes a los factores químicos y físicos de los suelo. En la mayoría de los casos aplicaciones exógenas a los suelos son requeridas para que el proceso de remediación sea efectivo tales como aplicaciones de agentes quelantes. De tener concentraciones altas de Cd en los vástagos se le contribuye a aplicaciones químicas, el potencial de fitoextracción de Cd podría ser limitado por problemas de fitotoxicidad.

## 2.3 Plantas acumuladoras de Cd

Hasta el momento se han descubierto alrededor de 420 especies de plantas en el mundo capaces de remover metales pesados, el problema que tienen la mayoría de estas especie es que poseen una baja tasa de crecimiento y poca biomasa por lo que se necesita más tiempo para remover contaminantes. Las plantas utilizadas en la fitoremediación deben acumular más de un 0.5% del contaminantes. Entre las especies más estudiadas y efectivas en la fitoremediación se encuentra la planta *Thlasi caerulescens*. La tabla #1 muestra las plantas que acumulan altas concentraciones de Cd en estudios previos.

**Tabla 1. Plantas que acumulan altas concentraciones de Cd en sus tejidos.(Hung-Yu et al. 2006)**

<b>Especies</b>	<b>Concentración mg/kg</b>
<i>Lemna trisulca</i>	2,300
<i>Lemna minor L.</i>	13,300
<i>Azolla filiculoides</i>	10,000
<i>Eichornia crassipes</i>	36,000
<u><i>T. caerulescens</i></u>	14,100-28,000
<i>T. caerulescens</i>	>1,000
<i>Cardaminopsis halleri</i>	281
<i>Taraxacum officinale</i>	20-1,360
<i>Triticum aestivum</i>	479
<i>Helianthus annus L.</i>	114
<i>Cichorium intybus L.</i>	10- 890

### 2.3.1 Elección de especies fitoremediadoras

La elección de una buena especie de planta es un factor clave en todo proceso de fitoremediación. Dos grupos de plantas que son consideradas para estos propósitos son las especies hiperacumuladoras; estas son plantas que son capaces de acumular y tolerar niveles extraordinarios de metales y por último especies que produzcan un alto contenido de biomasa. Por otro lado también deben traslocar una parte significativa del contaminante a la parte aérea de la planta. La especie tiene que ser de rápido crecimiento, con un sistema radicular profundo y extenso. Una buena especie fitoextractora será una que pueda acumular 1% o más del metal en el vástago.

Sangabriel et al. 2006, determino la tolerancia y capacidad seis especies de plantas en un suelo contaminados por accidente con un hidrocarburo. El estudio fue realizado en un invernadero, utilizaron las especies *Clitoria ternatea*, *Phaseolus coccineus*, *Cicer arietinum*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum máximum* y *Brachiria* híbrido. Las plantas fueron sembradas en el suelo con 50,000 mg/kg del combustible y en un suelo con las mismas características adyacente al lugar del accidente sin contaminante por 90 días. Semanalmente datos de altura fueron tomados, al culminar el experimento se evaluó volumen radical, población de bacteria y hongos. Una extracción y cuantificación de combustible fue tomado antes y después del experimento para determinar la degradación de este. *Phaseolus coccineus* fue la única de las leguminosas que sobrevivió pero no demostró ser buena degradando el combustible. En el caso de las gramíneas ninguna fue afectada por el contaminante y se encontró que *Brachiaria brizantha*, *Panicum máximum* fueron las mejores degradando el combustible.

Un estudio donde se determinó el contenido, distribución y la solubilidad del Cd en dos tipos distintos de suelos bajo los efectos de una reforestación fue llevado a cabo por Andersen et al. (2002). Suelos arados y boscosos con tres características de texturas distintas fue uno de los parámetros a analizar para la determinación del contenido de Cd en ellos. Estos suelos tenían textura arenosa, limo arcilloso y arena limosa; cada uno variaba con respecto a la acidez, contenido de arcilla y capacidad de intercambio catiónico. Se encontró que no hubo un cambio en el pH en el suelo arado en cambio en el suelo de bosque sí. Por el contrario el contenido de Cd en el suelo arado fue mayor que el boscoso. El contenido de Cd no varió significativamente con la profundidad en el suelo arable arena limoso. En el caso del suelo de bosque mostro una uniformidad en la distribución de Cd. Se piensa que los resultados en un suelo arado tiende a tener una retención de Cd en la superficie del suelo es originado por los fertilizantes. La concentración de Cd disminuyó al pH aumentar al igual que en un suelo arena limoso fue mayor que en uno limoso arenoso y un suelo arenoso.

Zhang et al. 2004 realizaron una investigación donde indican que existe una relación entre en la acumulación de metales pesados en plantas con las características del suelo específicamente de uno acido.

## **2.4 Problema de Contaminación Ambiental**

### **2.4.1. Caribe**

Existe poca información relacionada a contaminación encontrados para los países del Caribe lo que es muy preocupante. El rápido crecimiento en las actividades industriales en los años 1960 contribuyo a la contaminación de suelos en países del Caribe tales

como el plomo (Pb), cobre (Cu), zinc (Zn),hierro (Fe),cadmio (Cd),níquel (Ni),manganeso (Mn) y cromo (Cr) han sido detectado en cantidades toxicas son frecuentemente encontrados en el Caribe. La mayor fuente de estos metales son las industrias mineras, la agricultura y los desechos de las industriales. Grandes exportaciones de níquel provienen de República Dominicana y México así como exportaciones de cobre de Cuba y República Dominicana (Fernández et al. 2007). Estas exportaciones han resultado en contaminación como el plomo, cobre y zinc al ambiente marino.

Actividad agrícola es otra de las principales fuentes de contaminación por metales pesados en el Caribe. Un alto uso de plaguicidas y fertilizantes con la erosión, escorrentía o transporte atmosférico contribuyen a una alta contaminación. En el caso de elementos traza 14 fueron encontrados en el reporte de Fernández et al. 2007. Dos Santos & Wenzel 2006 documentaron que en el caso de Puerto Rico, República Dominicana y Cuba tienen níquel, cobalto y hierro pero no comentan sobre posibles lugares contaminados por metales.

Particularmente prácticas militares en la isla de Vieques en Puerto Rico han conllevado a ciertas investigaciones debido a un alto contenido de ciertos metales pesados en particular.

### 3.1OBJETIVOS

- Evaluar la absorción de cadmio (Cd) por las especies de forrajes *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana* en tres series de suelos con diferentes propiedades químicas, físicas y mineralógicas.
- Determinar el comportamiento de Cd en los tres suelos.
- Evaluar el crecimiento de las dos especies de forrajeras bajo distintas concentraciones de Cd.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1 Selección de los suelos

Se recolectó suelo de los horizontes superficiales de las series San Antón (Fine-loamy, mixed, superactive, isohyperthermic Cumulic Haplustolls), Corozal (Very-fine, parasesquic, isohypethermic Typic Hapludults) y Coloso (Very-fine kaolinitic, acid, isohyperthermic Vertic Endoaquepts). El suelo San Antón se recolectó en la Subestación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico en Juana Díaz. Este suelo es de régimen de humedad isohipertérmico donde la media anual en la temperatura del suelo es 22 grados C° o mayor y con una diferencia entre verano e invierno la media es menos de 6 grados C°. De orden de Suelo Mollisol, encontrados en regiones semiáridas con horizontes poco desarrollados, son suelos profundos textura lómica, alta fertilidad.

El suelo Corozal se recolectó en Subestación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico en Corozal este suelo es de Orden Ultisol se encuentra en áreas lluviosas y con horizontes poco desarrollados, altamente meteorizado, de régimen de humedad isohipertérmico, con pH alto y con un alto contenido de arcillas. Por último el suelo Coloso se recolectó en la Reserva Agrícola del Valle de Coloso en Aguada .Este pertenece al orden de suelo Inceptisol es un suelo ácido, de régimen de humedad isohipertérmico, de horizonte poco desarrollado o pobremente definidos. El suelo estará saturado estará saturado de agua largo por lo que causara condiciones de reducción del suelo, De cada serie de suelo se recolectó aproximadamente 150 kg del horizonte

Ap. Se removió todo material ajeno al sustrato en cada caso y se molió el suelo para romper los agregados grandes y uniformizar el tamaño de los mismos.

## 4.2 Capacidad de Campo

Para determinar la capacidad de campo de cada serie de suelo se pesó triplicados de 500 g de suelo previamente pasado por un tamiz No.10 (2mm) y se colocaron en bolsas plásticas (Figura 2).

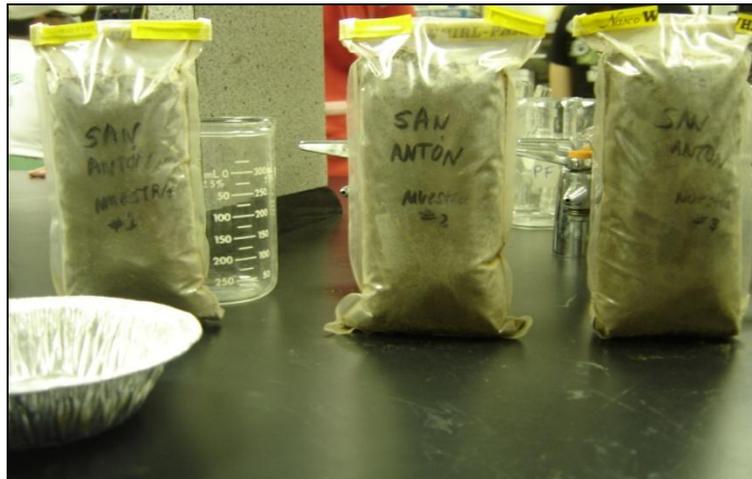


Figura 2. Bolsas para determinación de Capacidad de Campo

A cada bolsa se le agregó agua lentamente evitando que se humedecieran los primeros 5 cm de cada bolsa midiendo desde la base. Cada bolsa se colocó en un “beaker” de 400 ml y se dejó equilibrar por 24 horas. Luego se cortó y se descartó 2.5 cm del extremo superior del cilindro y 5 cm de la parte inferior o base (Figura3 y 4).



Figura 3. Corte de 2.5 cm del extremo superior de la muestra del suelo.



Figura 4. Corte de 5 cm de la parte inferior de la muestra de suelo.

El suelo restante fue pesado para determinar su peso húmedo y se colocó en un horno por 24 horas a 115 °C. Luego se determinó su peso seco. Ya con ambos pesos, húmedo y seco se pudo calcular la capacidad de campo para cada suelo. La tabla #2 muestra la cantidad de Agua necesaria para llevar a capacidad de campo cada suelo.

### 4.3 Aplicación de Cadmio al suelo

Para cada serie de suelo se utilizaron 32 muestras de 50 g de suelo pasadas por un tamiz No. 10(2mm). Se colocó en vasos de 120 ml a los que se les agregó las dosis de  $\text{CdCl}_2$  en distintas concentraciones (0, 10, 50 y 500  $\text{mg kg}^{-1}$ ), 8 vasos por concentración por planta (Figura 5). Los vasos fueron tapados y agitados para garantizar la mezcla del contaminante con el suelo.



Figura 5. Aplicación de  $\text{CdCl}_2$  en vasos de 120 ml.

Se utilizaron 96 bandejas plásticas (bandejas de incubación), de 36.2 cm de largo, 26.7 cm de ancho y 12.0 cm de profundidad, con una cubierta interna de papel plástico, para almacenar 3.66 kg de suelo de cada serie, con 32 bandejas por serie (figura 5). A cada bandeja se le añadió y se mezcló el suelo contaminado, preparado previamente. Luego, cada bandeja fue llevada a capacidad de campo con agua

destilada y se dejó secar al aire (figura 6). Este procedimiento se llevó a cabo en 4 ocasiones con agua destilada. Una vez terminado el cuarto ciclo, el suelo fue colocado en tiestos plásticos de 1 galón donde se plantaron las especies forrajeras *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana*.

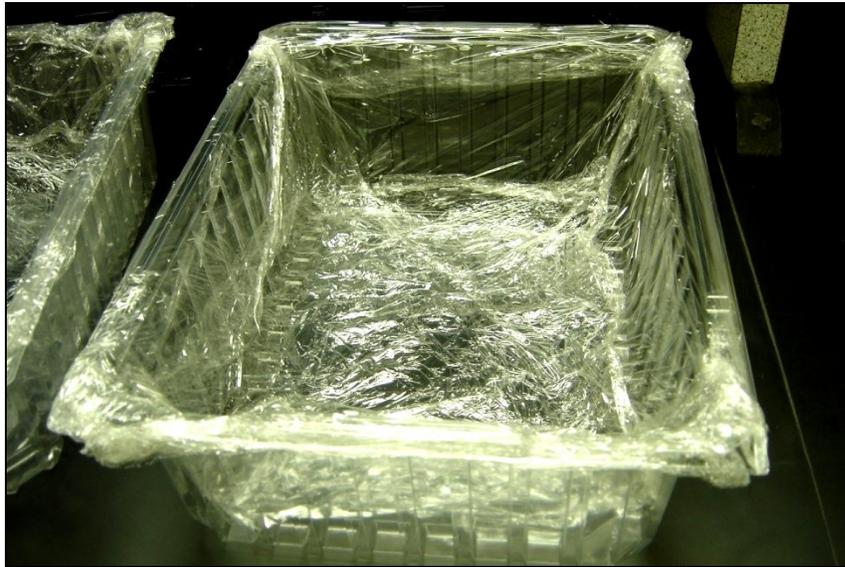


Figura 6. Bandejas de Incubación.



Figura 7. Aplicación de agua destilada para llevar a capacidad de campo.

#### 4.4 Siembra y Diseño Experimental

En el estudio de absorción de Cadmio se utilizó las especies forrajeras *Brachiaria brizantha* y *Chloris gayana*. Estas gramíneas se sembraron en bandejas, utilizando un sustrato “Promix®”, en la 4 semana las plántulas se trasladaron a los 96 tiestos, previamente preparados con los tratamientos de Cadmio. Una vez efectuado el trasplante, se pesaron los tiestos y se utilizó el peso como referencia para registrar las pérdidas de humedad y poder mantener el suelo en su capacidad de campo. El periodo de crecimiento fue de 7 semanas, durante el cual las plantas se fertilizaron con dos aplicaciones en la tercera y sexta semana de 40 mg por tiesto con una formulación de 20-20-20 granular. Cada tiesto fue ubicado en un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 x 3 x 4 con 4 repeticiones por tratamiento por suelo por planta (Figura 7), incluyendo especie, serie de suelo, tratamiento y repeticiones. (Figura 7).

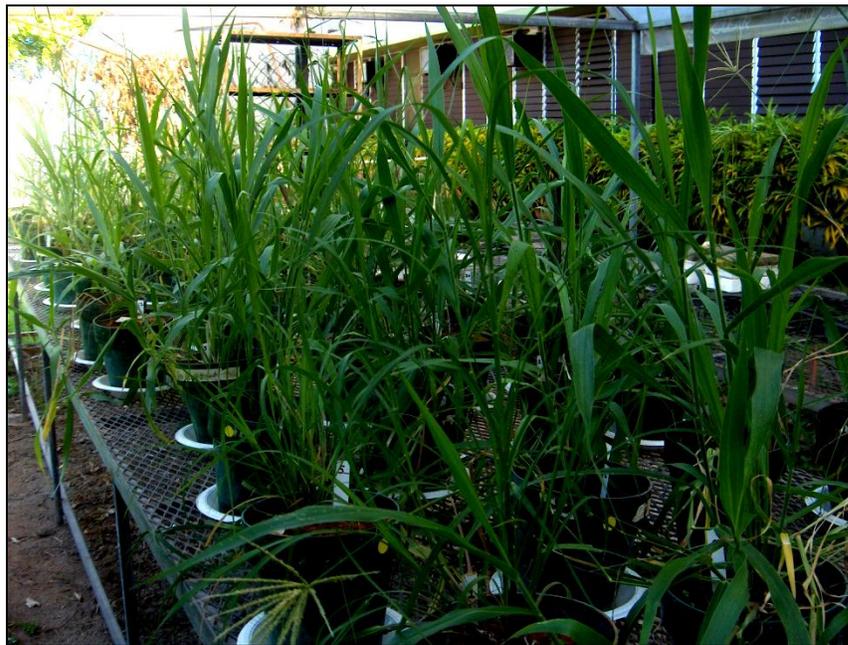


Figura 8. Diseño experimental

## **4.5 Recolección de datos experimentales**

Semanalmente se tomó datos de número de hojas y altura de la planta. La pérdida de humedad de los tiestos fue evaluado semanalmente y se añadió agua destilada según fuera necesario para llevar los tiestos a su peso original, establecido al comenzar el experimento. En la séptima semana se cosechó los vástagos y las raíces, se lavó con agua destilada, se secaron ligeramente con papel y se ubicaron en bolsas de papel previamente pesadas. Se secó en un horno por 24h a 70°C las muestras de tejido para determinar el peso seco. Se realizó análisis de la varianza con interacciones utilizando Infostat 2010 para la determinación de diferencias significativas.

## **4.6 Análisis de Suelo**

Una muestra de suelo representativa aleatoria a cada tiesto fue secada al aire, molida con un mortero y llevada al laboratorio. El pH fue tomado con una razón 1:1 donde se peso 5g de suelo y se añadió 5 ml de agua destilada. Esta mezcla se agito por 5 minutos y luego fue medido con el medidor de pH *Meter Toledo*. Para la determinación de la Capacidad de Intercambio de Cationes 5 g de suelo fueron pesados y mezclados con 30 ml de una solución de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.2M. Estas muestras fueron centrifugadas y filtradas con un papel de filtro Whatman No.42, esto fue repetido 4 ocasiones más para luego llevar a volumen en un matraz volumétrico de 250 ml con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.2M. Las muestras fueron analizadas con un plasma de acoplamiento inductivo (ICP) donde se determino el contenido de K, Ca y Mg.

Una modificación a la extracción secuencial de Knudtsen y O' Connor fue realizada; donde se utilizó papel de filtro Whatman No.2 y la centrifugación por 15 minutos a 2,500 rpm. Dos gramos de suelo fueron pesados de cada muestra para medir las 5 fracciones en la extracción; la intercambiable, la adsorbida, la orgánica, la carbonatada y la residual.

A la fracción intercambiable se le añadió 25 ml de  $\text{KNO}_3$  0.5M, se agitó por 16 hrs, se centrifugó y se filtró. En el caso de la fracción extraíble 25 ml de agua deionizada fueron añadidos a las muestras, agitados por 2 hrs para luego ser centrifugadas y filtradas. A esta fracción las arcillas, óxidos de hierro y magnesio hidratados y ácidos húmicos han demostrado adsorción de metales traza por lo que cambios en la composición del agua se verán en esta fracción. Para la fracción orgánica se le añadió 25ml a la muestra NaOH 0.5 M se agitó por 16 hrs y el sobrenadante fue filtrado. En esta fracción se ha encontrado que metales traza se enlazan en varias formas a la materia orgánica. Ya en la cuarta fracción, la fracción carbonatada; 25 ml de EDTA 0.5 M fue añadido a las muestras para una extracción de 6 hrs, se centrifugó y se filtro el sobrenadante. Se espera que en esta fracción de encontrarse sedimentos carbonatados estos se asocien a los metales pesados. Por último 12.5 ml de  $\text{HNO}_3$  fueron añadidos a las muestras para la fracción residual, estas muestras fueron colocadas en un Baño de María a  $80^\circ\text{C}$  por 16hr, antes de ser centrifugadas se les añadió 12.5 ml de agua deionizada para entonces centrifugar y filtrar. La fracción residual luego de las cuatro fracciones ser removidas aquí él en suelo se encontraran minerales primarios y secundarios en donde los metales traza estarán atados a ellos. Con el  $\text{HNO}_3$  se liberaran a la solución pero en una fracción de tiempo considerable.

Para todas las fracciones luego de ser filtradas se almacenaron en una nevera a 4°C. Por último se procedió a analizar con un plasma de acoplamiento inductivo (ICP) (figura 8 y 9) cada una de las muestras para determinar el contenido de Cd en cada fracción. Se realizó análisis de la varianza con interacciones utilizando Infostat 2010 para la determinación de diferencias significativas.



Figura 9. Plasma de Acoplamiento Inductivo



Figura 10. Plasma de Acoplamiento Inductivo con muestra de Extracción Secuencial

#### **4.7 Análisis de Tejido**

Luego que las muestras de raíz y de vástago fueron secadas en horno, estas fueron molidas en un molino de tejido *Laboratory Mill, Standard Bench Model, Thomas-Wiley*. Se pesó 1 gramo de tejido y colocado en un crisol de cerámica. Las muestras fueron colocadas en una mufla a 550°F durante 6 horas, se dejó reposar las muestras hasta que estas enfriaran. Se le añadió a las muestras de una solución de HCl al 33% y se colocaron sobre una plancha de calentamiento y luego añadió 20 ml del HCL. Se esperó hasta que hirviera, luego se removió de la plancha las muestras y se dejó reposar hasta que enfriara. Con agua deionizada se llevó a volumen de 100ml. Las muestras fueron filtradas por un filtro Whatman #40. Luego cada muestra fue analizada con una dilución de cada muestra con un espectrofotómetro de absorción atómica *S Series Thermo Electro Corporation* para determinar la concentración del Cd, K y Mg en las muestras. Se realizó análisis de la varianza con interacciones utilizando Infostat 2010 para la determinación de diferencias significativas.

## 5. DISCUSION DE RESULTADOS

### 5.1 Efecto en Crecimiento

Determinamos si hubo un efecto en crecimiento en la interacción triple; Suelo\* Especie\* Contenido de Cd donde la hipótesis nula se aceptaba ya que el valor  $p = 0.6531 > 0.05$  (nivel de significancia) revelando que no existen diferencias significativas entre los tres factores (figura 11).

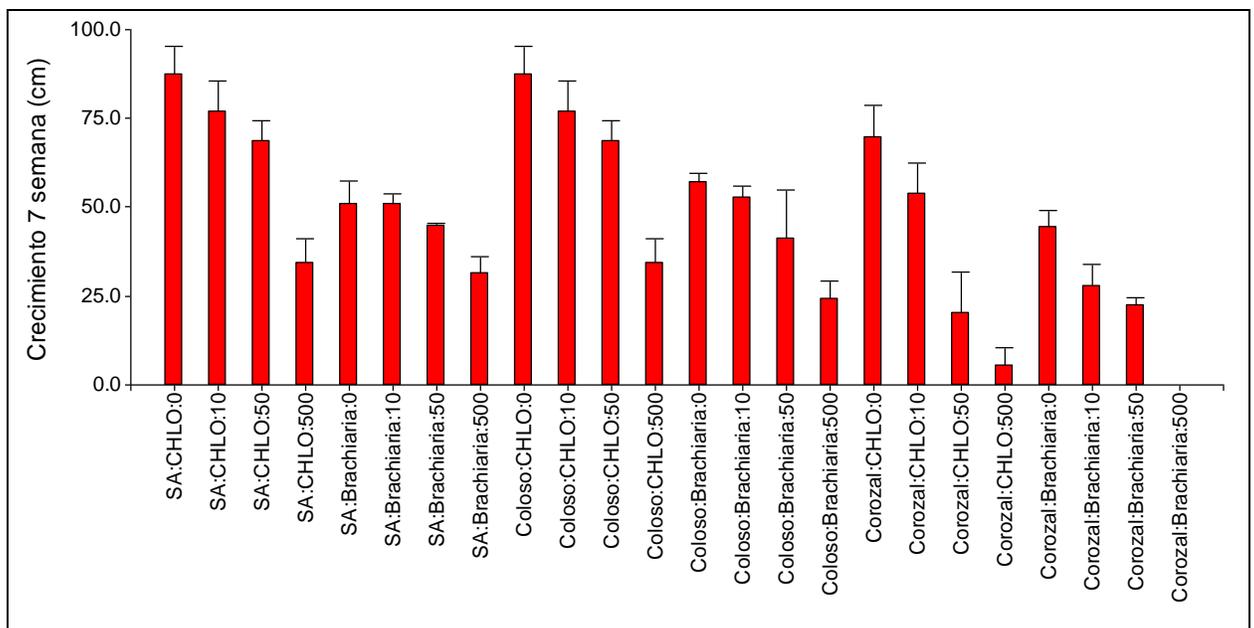
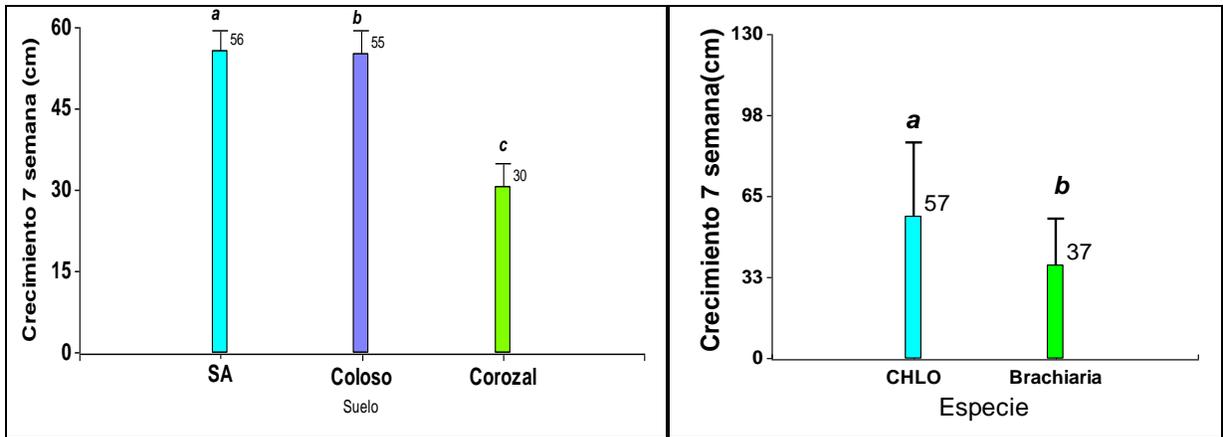


Figura 11. Efecto del crecimiento respecto a la interacción triple (Suelo\* especie\* contenido de Cd).



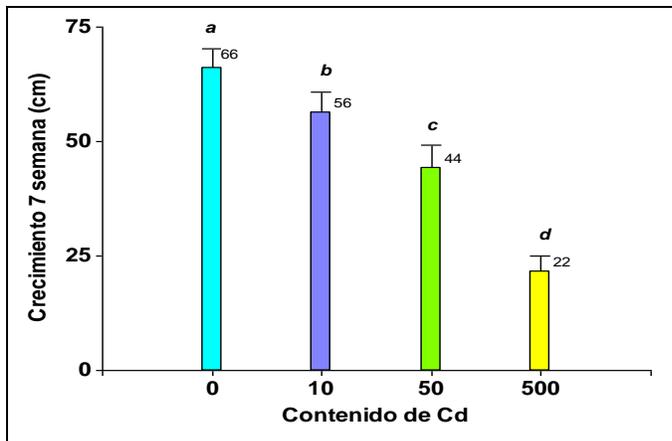
**Figura 12. Crecimiento de *Chloris gayana* en suelo Coloso, San Antón y Corozal en 0 ppm y 500 ppm**

En los efectos principales se observó que en los tres factores (suelo, especie y tratamiento) existe al menos una diferencia (figura 13). En el caso del efecto suelo el valor  $p < 0.0001 < 0.05$  (nivel de significancia) por lo que se rechaza la hipótesis nula mostrando que el factor suelo hace que difiera el crecimiento (figura 13A). Se observa que el menor crecimiento se observó en el suelo de la serie Corozal, pero éste obtuvo diferencia significativa entre el suelo de la serie Coloso y San Antón. El factor especie obtuvo un valor  $p < 0.0001 < 0.05$  (nivel de significancia) rechazando de igual forma a este factor, ya que hay diferencias significativas en el crecimiento por especie mostrando que la especie *Chloris gayana* obtuvo mayor crecimiento (figura 13B y 14). En el caso del contenido de Cd (tratamiento) en las muestras su valor  $p < 0.001 < 0.05$  (nivel de significancia) por lo que se rechaza la hipótesis nula demostrando que el contenido de cadmio difiere en el crecimiento (figura 13C).



A.

B.



C.

Figura 13.A. Efecto en el crecimiento por serie de suelo. B. Efecto en crecimiento por especie. C. Efecto en crecimiento por contenido de Cd.

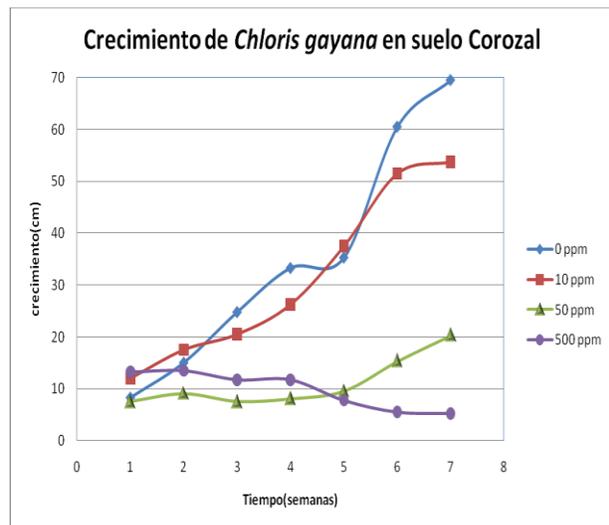
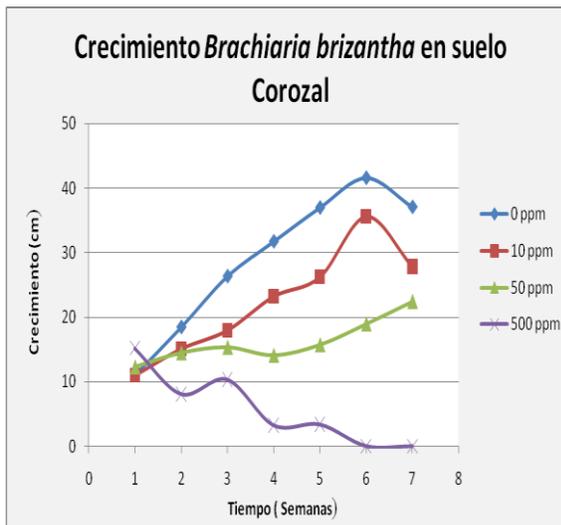
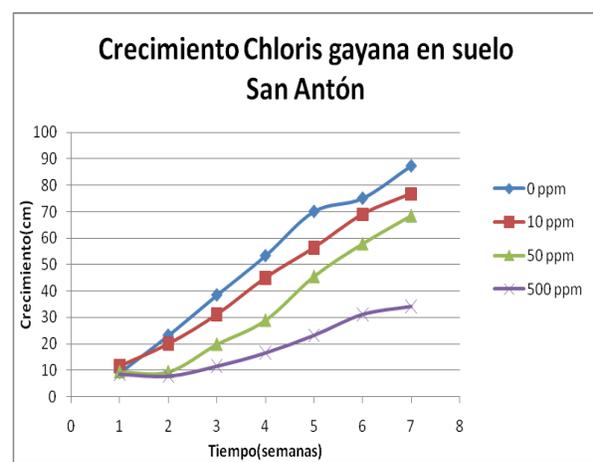
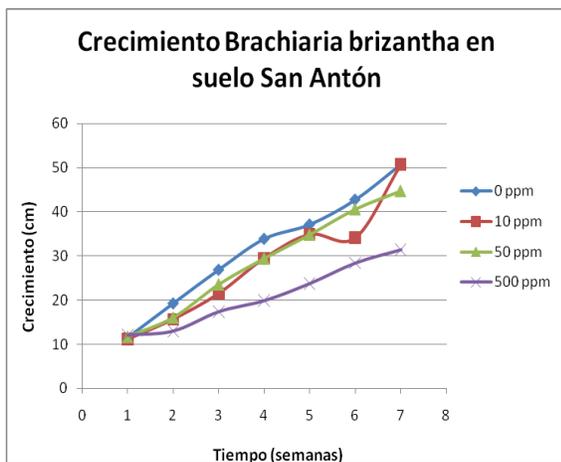
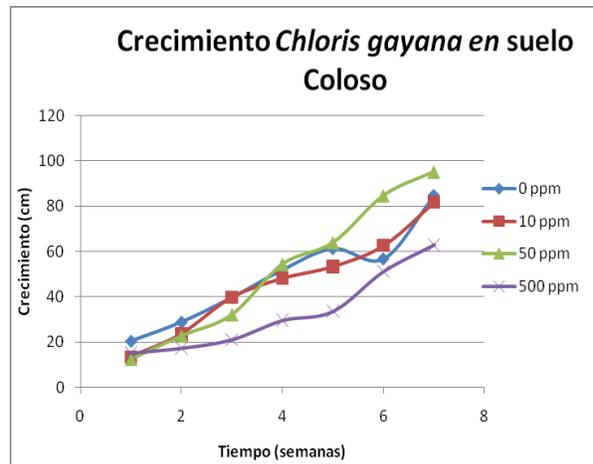
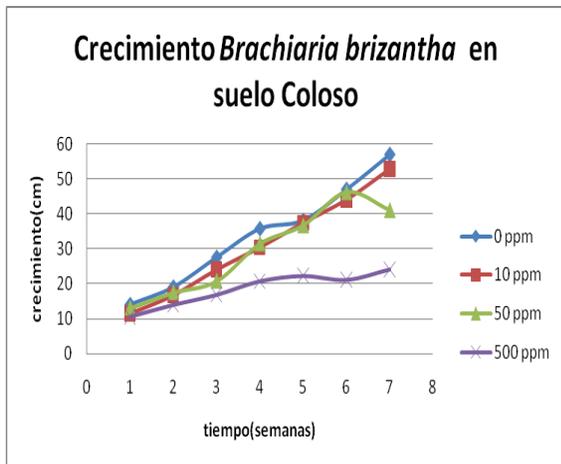


Figura 14. Crecimiento por especie y suelo.

## 5.2 Efecto en Peso Seco

Diferencias entre el peso seco de raíz y vástago fue determinada. Mostrando que hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el peso seco de raíz por especie (figura 13). En el caso del vástago no hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el peso seco por especie (figura 14).

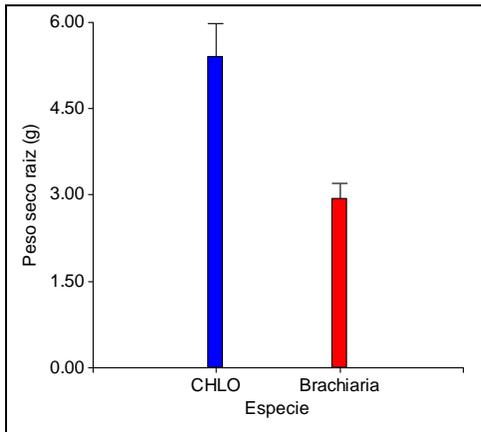


Figura 13. Efecto en peso seco de raíz por especie.

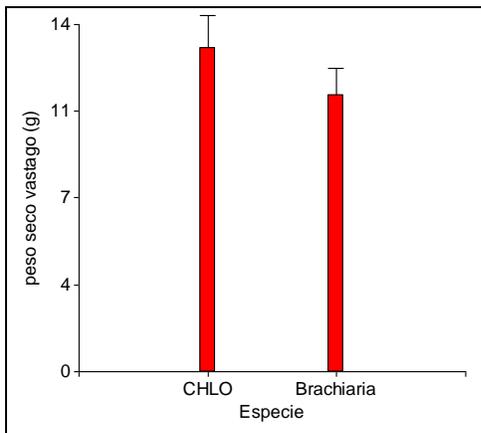


Figura 14. Efecto en peso seco en vástago por especie.

### 5.3 Número de Hojas

Para el número de hojas se encontró que en la interacción triple el valor p fue  $0.1028 > 0.05$  (nivel de significancia) por lo que se aceptó la hipótesis nula indicando que no existen diferencias significativas entre los tres factores (figura15).

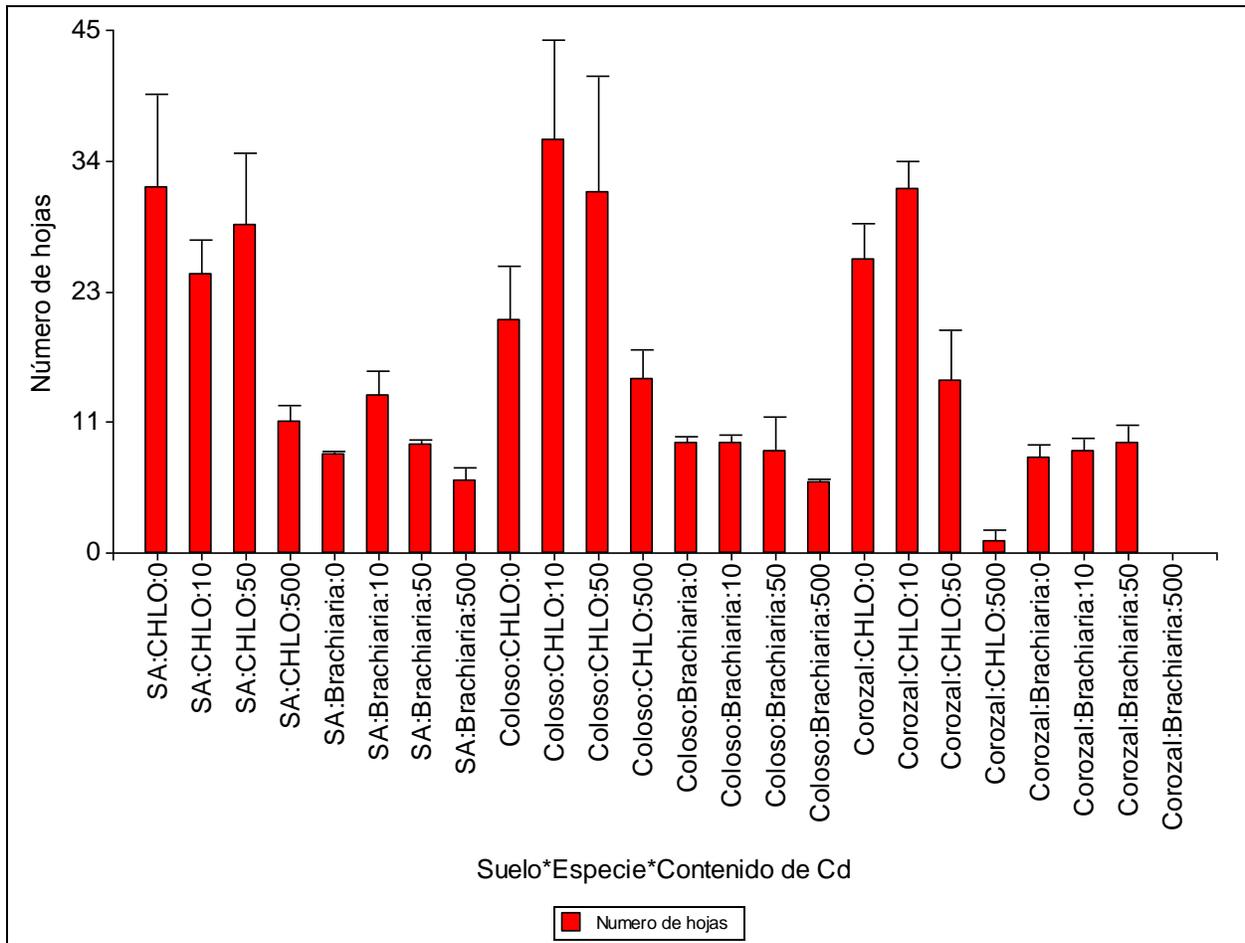
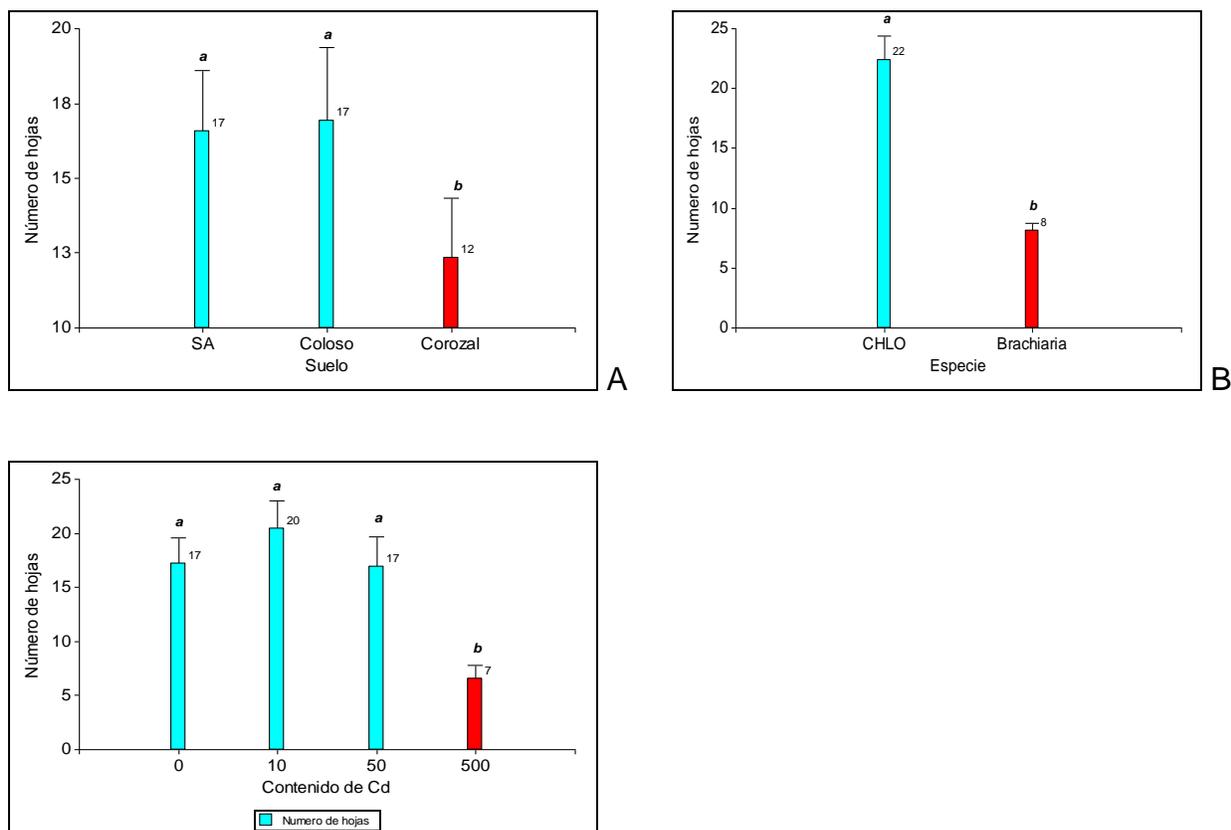


Figura 15. Efecto del número de hojas respecto la interacción triple (Suelo\* especie\*contenido de Cd).

El efecto suelo, especie y contenido de Cd como factores principales mostraron diferencias significativas (figura 16 y 17). En el caso del suelo el valor  $p .0420 < 0.05$  indicó que al menos en uno de los suelos ocurrió una diferencia significativa, siendo el

suelo Corozal quien obtuvo menor número de hojas. El factor especie tuvo un valor  $p < 0.0001 < 0.05$  indicando que entre las especies hubo una diferencia significativa, siendo la especie con mayor número de hojas *Chloris gayana*. Por último en el caso del factor contenido de Cd el valor  $p < 0.0001 < 0.05$  rechazado entonces la hipótesis nula concluyendo que al menos una de las medias del contenido de Cd es significativo, siendo 10 ppm quien obtuvo mayor número de hojas ( figura 16C).



**C**

Figura 16. A. Efecto en el número de hoja por serie de suelo. B. Efecto en el número de hoja por especie. C. Efecto en el número de hoja por contenido de Cd.

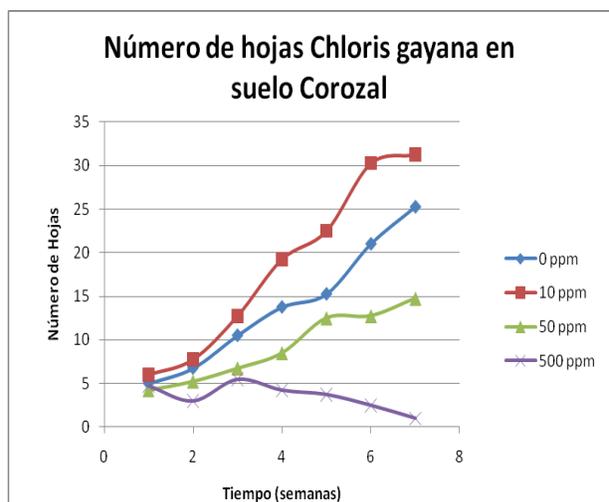
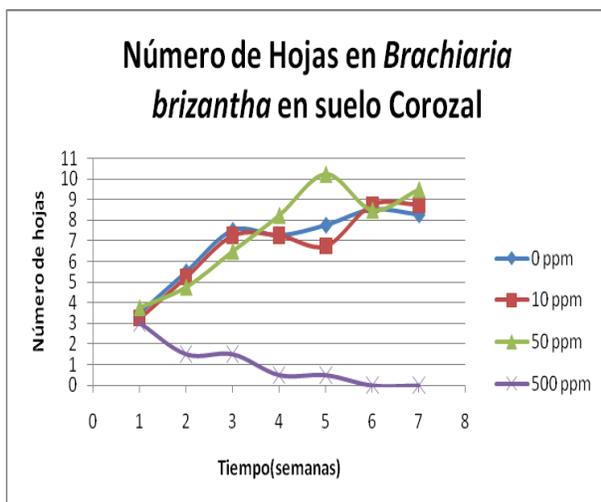
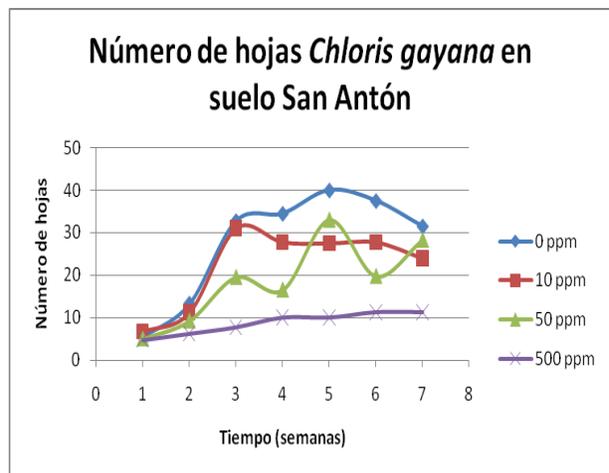
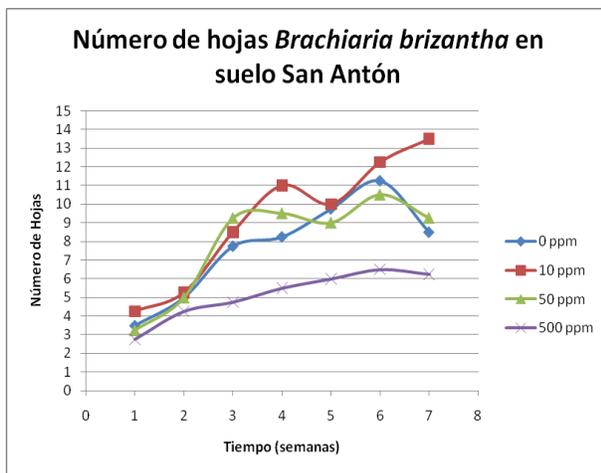
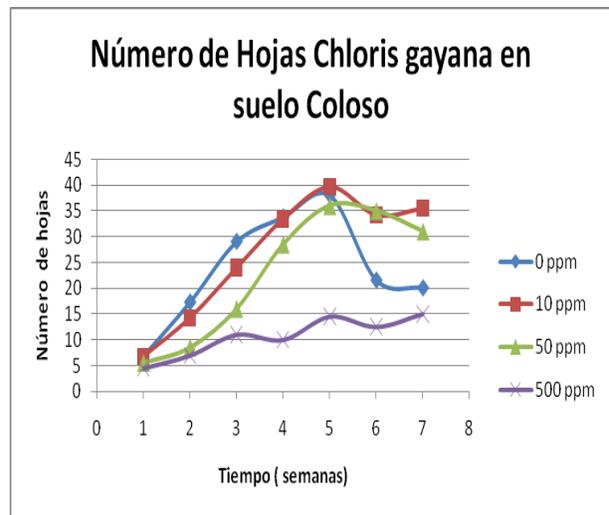
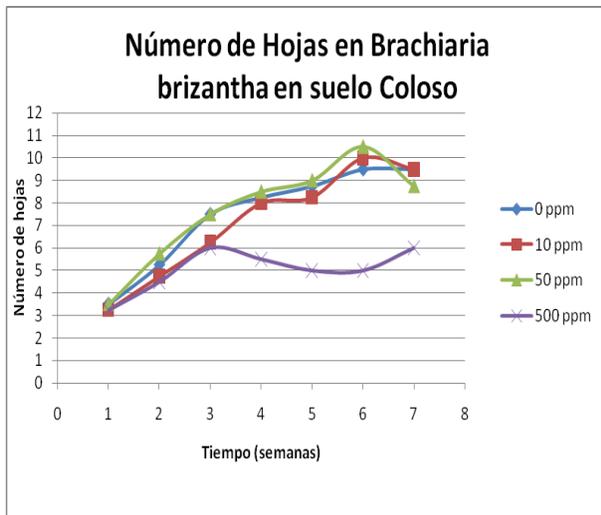


Figura 17. Diferencias significativas entre especie, suelo y contenido de Cadmio en el número de hojas

## 5.4 pH

Cuando analizamos el pH del suelo se observaron diferencias significativas antes y después del experimento (tabla #2). En la interacción triple el pH del suelo (suelo\*especie\* contenido de Cd) no tuvo una diferencia significativa ya que el valor  $p > 0.05$  por lo que se rechazó la hipótesis nula. Se observa que antes del experimento el suelo San Antón y Coloso no mostraban diferencias significativas pero luego del experimento hubo una diferencia significativa entre todos los suelos (figura 18). La figura 20 muestra como el pH luego del experimento en todos los suelos bajó. Un factor que pudo haber influido en el cambio en el pH pudo ser el cambio en equipo.

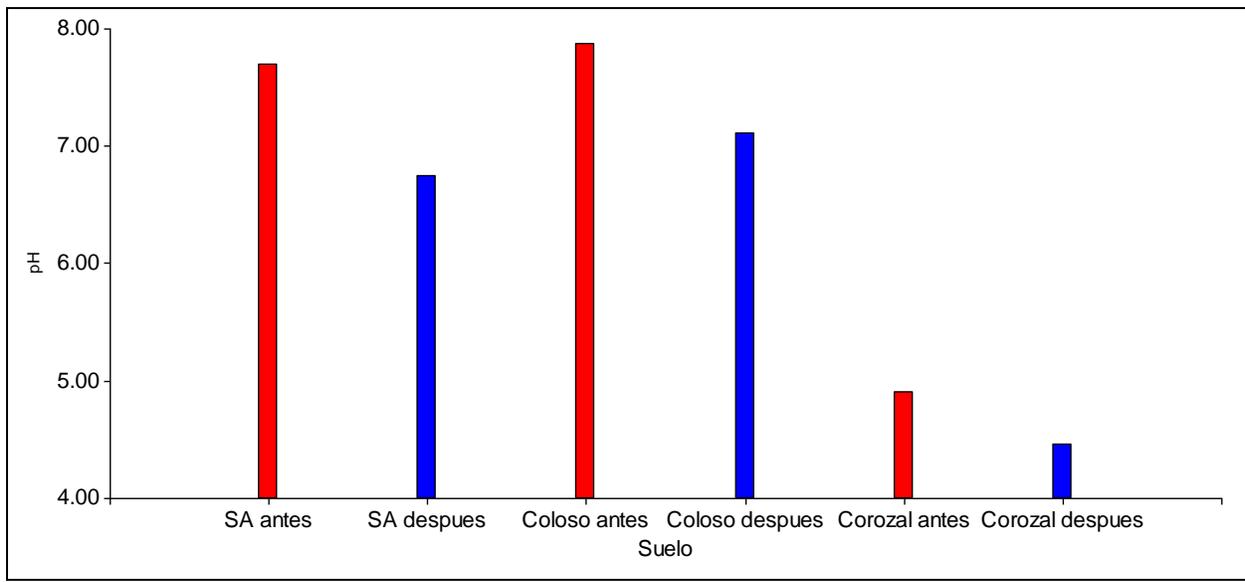


Figura 18. Cambio en pH por serie de suelo antes y después del experimento.

<b>pH antes del experimento</b>			
Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.35240			
Error: 0.0311 gl: 6			
Suelo	Medias	n	
Corozal	4.90	3	A
SA	7.70	3	B
Coloso	7.87	3	B
<i>Letras distintas indican diferencias significativas (p&lt;= 0.05)</i>			

Figura 19.Diferencias entre medias en pH del suelo antes del experimento.

<b>pH después del experimento</b>			
Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.18077			
Error: 0.1316 gl: 72			
Suelo	Medias	n	
Corozal	4.46	32	A
SA	6.74	32	B
Coloso	7.11	32	C
<i>Letras distintas indican diferencias significativas(p&lt;= 0.05)</i>			

Figura 20. Diferencias entre medias en pH del suelo después del experimento.

## 5.5 Capacidad de Intercambio Catiónico

En el análisis de varianza se observa que en la interacción triple no hubo una diferencia significativa (figura 21), pero si hubo diferencia significativa en la capacidad de intercambio catiónico entre suelo (figura 22). La tabla # 2 muestra los resultados para la capacidad de intercambio catiónico antes y después del experimento Siendo el suelo Coloso el que obtuvo mayor capacidad de intercambio catiónico.

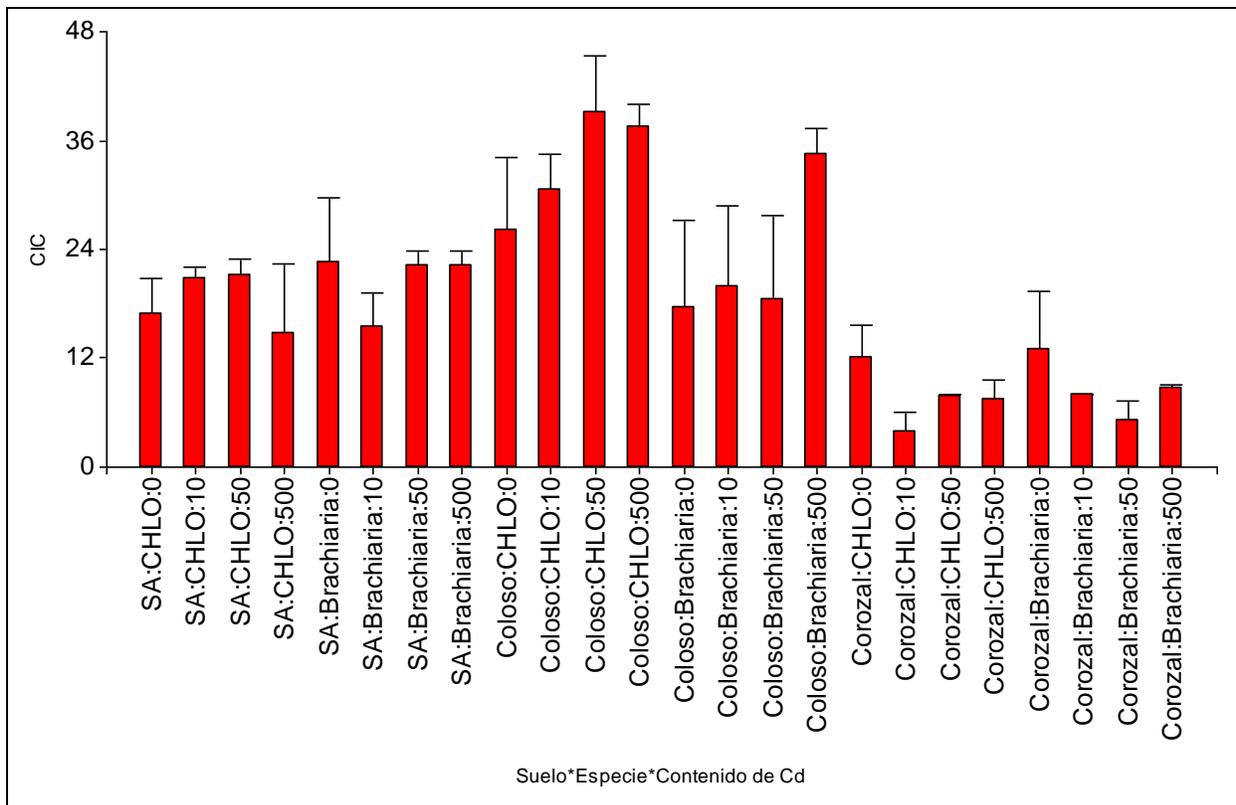


Figura 21. Efecto en interacción triple en la capacidad de intercambio de cationes (CIC).

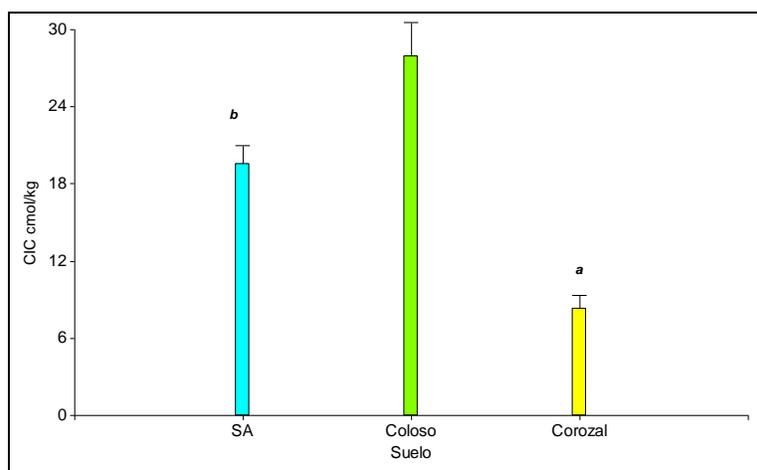


Figura 22. Efecto de Capacidad de Intercambio en suelo.

En el caso de K en el suelo, hubo diferencia significativa entre los suelos siendo el suelo San Antón el que obtuvo mayor contenido de K (figura 23 A). En el contenido de Ca en el suelo hubo diferencia significativa entre todos los suelo siendo el suelo Coloso el que obtuvo mayor contenido de Ca (figura 23 B). Por último el suelo San Antón mostró mayor contenido de Mg y una diferencia significativa entre los suelos (figura 23 C). La capacidad de intercambio de cationes reveló que no mostró un cambio entre suelo previo al experimento.

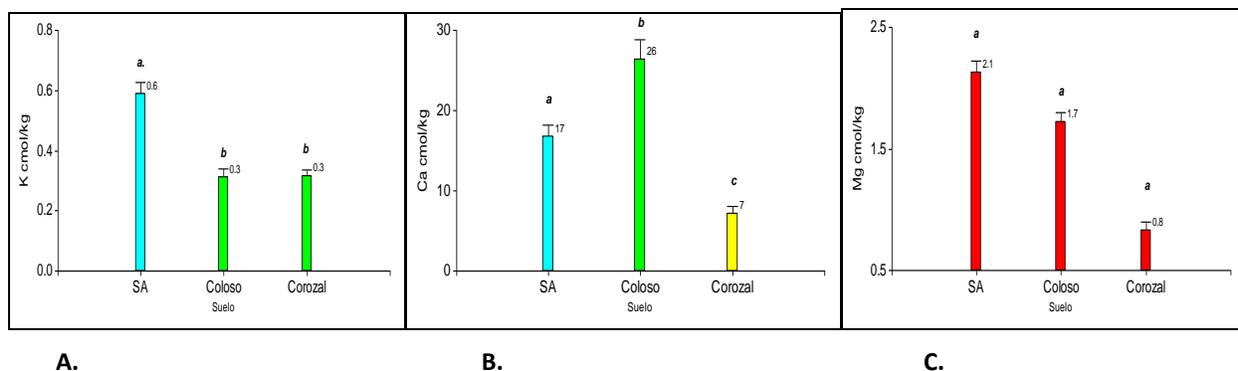


Figura 23. Cationes intercambiables por suelo.

Tabla 2: Características físicas y químicas de los suelos utilizados en el estudio.

Serie de Suelo	Ca disponible	K disponible	Mg disponible	ppm Cd	CIC	%M.O.	CC <sup>3</sup> mL	pH
				Antes <sup>1</sup>				
San Antón	20.6	0.84	2.4	0.36	24.26	2.43	864.73	7.7
Corozal	4.27	0.22	0.47	0.01	7.2	3.16	1,224.65	4.8
Coloso	36.1	0.42	1.92	0.03	35.8	4.73	1,292.51	7.8
				Después <sup>2</sup>				
San Antón	17	0.6	2.1	93	20	N/A	-	6.74
Corozal	7	0.3	0.8	343	8	N/A	-	4.46
Coloso	26	0.3	1.7	4606	28	N/A	-	7.11

<sup>1</sup>: resultados obtenidos antes de realizar el experimento; <sup>2</sup>: resultados obtenidos después de realizar el experimento

<sup>3</sup>: Capacidad de Campo

## 5.6 Análisis de Tejido

### 5.6.1 Raíz

Un análisis de tejido en la raíz fue llevado a cabo para determinar la absorción de Cd para ambas especies. Encontramos que en la interacción triple fue significativa. Por lo que se concluye que tanto el suelo, la especie y el contenido de cadmio difieren entre ellas (Figura 24). Se observa que el suelo Coloso en la especie *Chloris gayana* en 500ppm fue el que obtuvo un mayor por ciento de recuperación de cadmio con una absorción de 1ppm en la raíz.

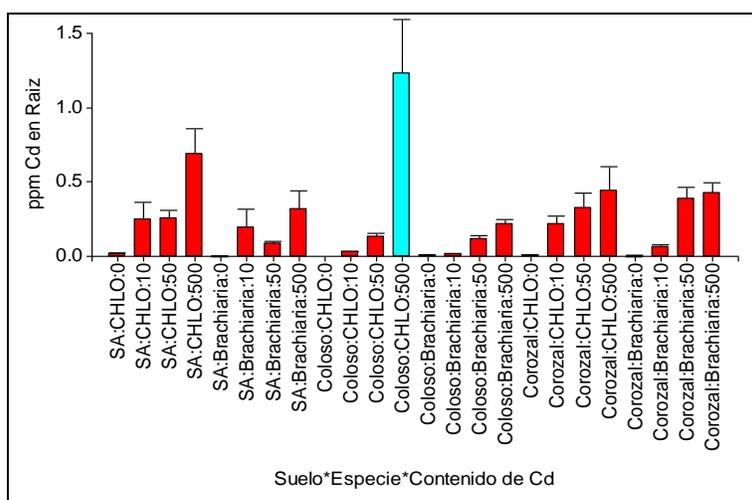


Figura 24. Efecto en la Interacción triple en absorción de Cd en Raíz.

### 5.6.2 Vástago

Cuando determinamos el contenido de Cd en el vástago hallamos que no existen diferencias significativas entre la interacción triple suelo, especie y contenido de cadmio en la absorción de cadmio en el vástago (figura 25).

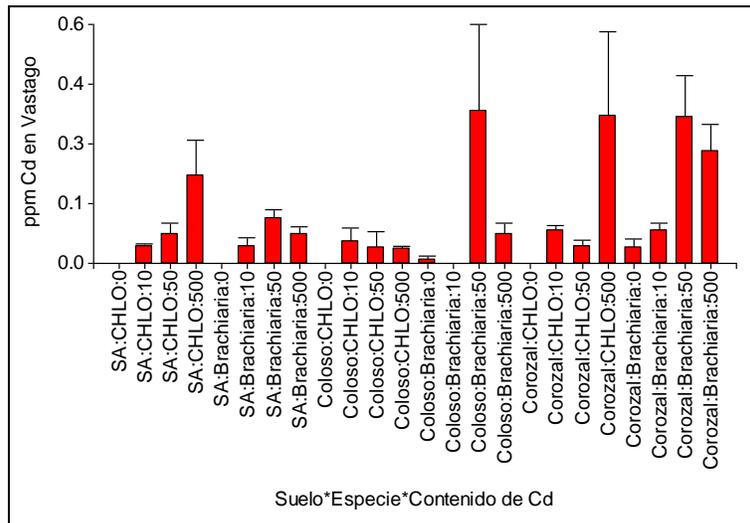


Figura 25. Efecto de interacción triple en vástago.

El factor suelo tubo un valor  $p = 0.0252 < 0.05$  indicando que el factor **suelo** es significativo en la absorción de Cd al vástago (figura 26).

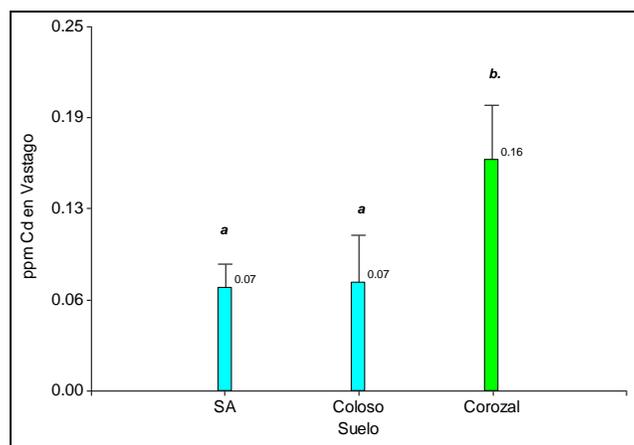


Figura 26. Efecto principal del suelo en la absorción del vástago.

En el caso del efecto especie el valor p fue  $0.1563 > 0.05$  concluyendo que el factor **especie** no es significativo en la absorción de Cd hacia el vástago (figura 27). El factor especie no varía en la absorción del cadmio.

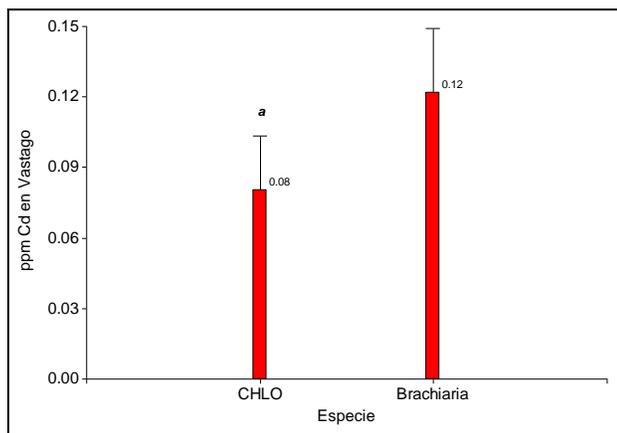


Figura 27. Efecto de especie en absorción de Cd al vástago.

El valor p  $0.0001 < 0.05$  (nivel de significancia) por lo que se rechaza la hipótesis nula demostrando que el **contenido de cadmio** es significativo en la absorción de Cd en el vástago (figura 28). A mayor contenido de Cd mayor nivel de absorción en el vástago la absorción por el vástago no fue significativa.

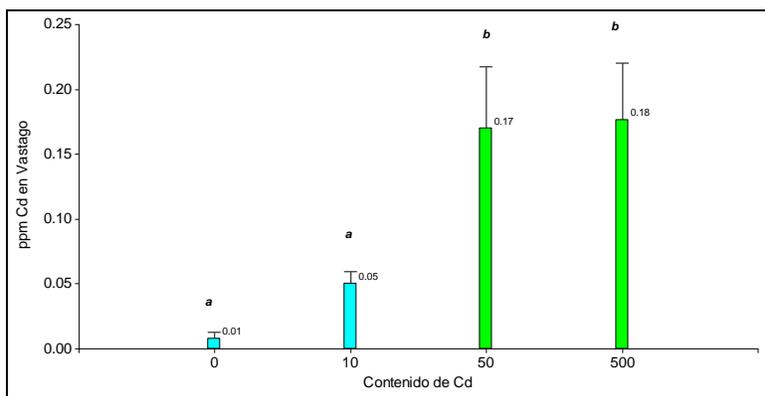


Figura 28. Efecto de contenido de Cd en vástago.

### 5.6.3 Porcentaje de Recuperación de K y Mg en tejido

Se ha encontrado plantas expuestas a altas concentraciones de cadmio muestran una disminución en la absorción de ciertos nutrientes. Un análisis de tejido fue realizado para la determinación de K y Mg en el vástago y raíz. Se encontró que en el % K en la raíz no experimentó cambios significativos (figura 29).

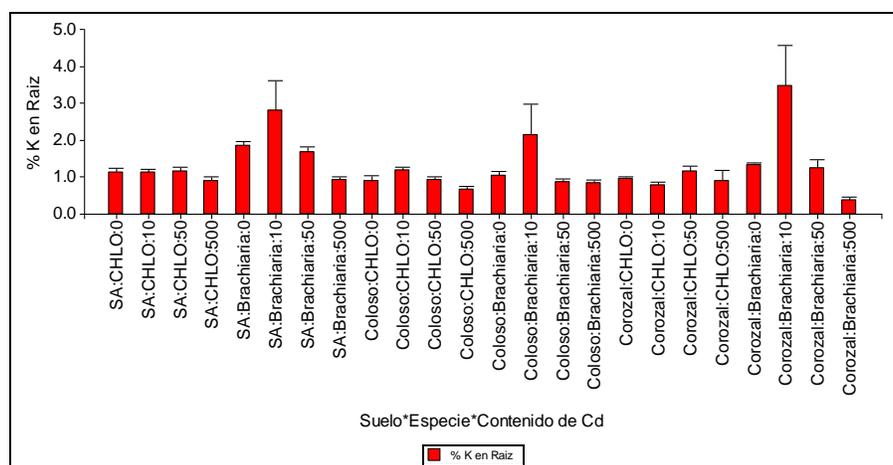
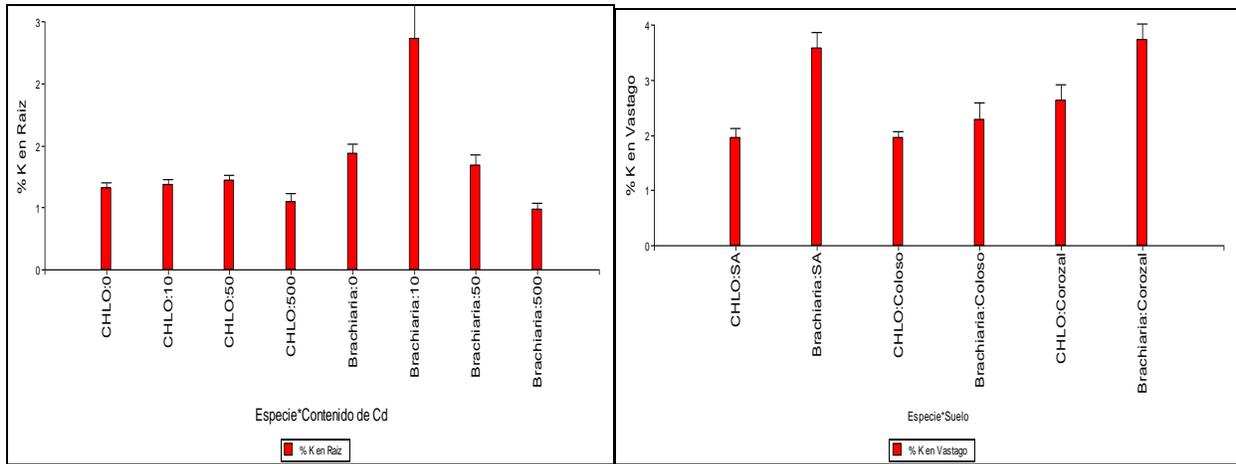


Figura 29. Efecto de la interacción triple en el contenido de K en raíz.

La interacción doble especie\* contenido de Cd se puede observar que hubo diferencia significativa mostrando que ambas especies en una concentración de 500 pm de Cd resultó obtener menor contenido de K en la raíz (figura 30 A). Por otro lado en el caso del vástago K al igual que en la raíz no hubo una diferencia significativa en la interacción triple (figura 31) pero en el caso de la interacción doble suelo\* especie fue significativo concluyendo que es el suelo San Antón, *Chloris gayana* acumuló menor contenido de K (figura 30 B).



A.

B.

Figura 30. Efecto significativo del % de K en raíz(A) y vástago (B).

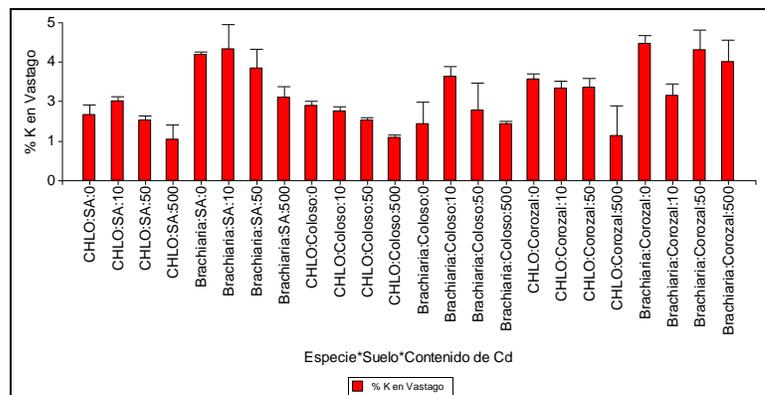


Figura 31. Porcentaje de K en vástago.

En el análisis de Mg en raíz no hubo diferencia significativa en la interacción triple (figura 32) pero si en la interacción doble Especie\*Contenido de Cd indicando que *Chloris gayana* a 50 ppm fue el que obtuvo menor contenido de Mg (figura 33A). Por último en el caso del vástago al igual que la raíz no hubo diferencia en la interacción triple pero si entre la especie\*contenido de Cd indicando que *Chloris gayana* a 10ppm obtuvo menor contenido de Mg (figura 33B).

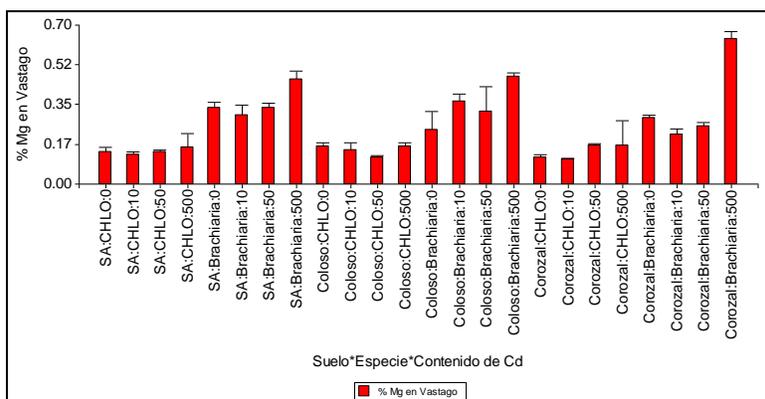
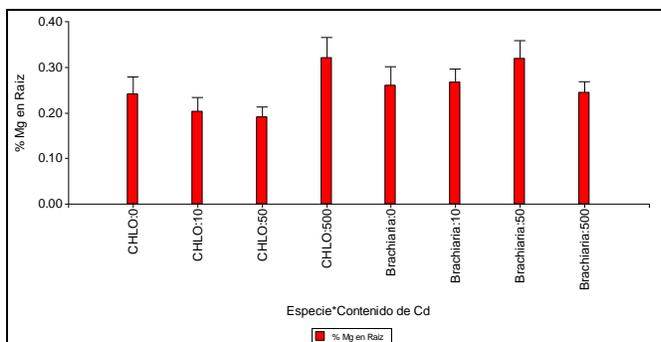
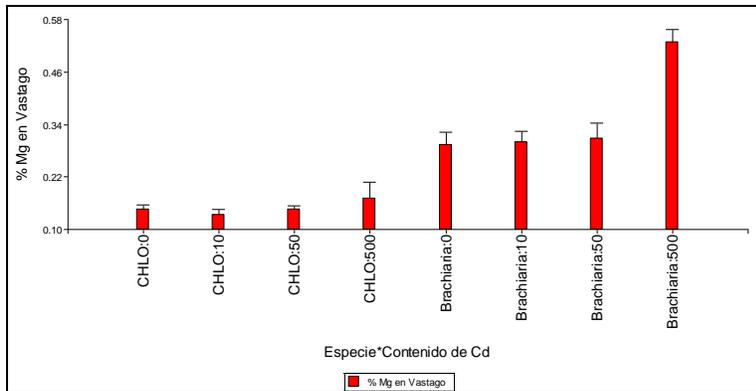


Figura 32.Efecto en la interacción triple en el porcentaje de Mg en el vástago.



A.



B.

Figura 33.Efecto de interacción doble especie contenido de Cd raíz (A) y vástago (B).

## 6. Extracción secuencial

No hubo una diferencia significativa entre los tratamiento con respecto a las fracciones en la extracción secuencial (figura 34) de igual forma no hubo una diferencia significativa entre las especies (figura 35), en cambio sí hubo una diferencia significativa entre los suelos. Se encontró que el suelo de la serie Corozal reveló tener mayor contenido de Cd en las distintas fracciones de extracción secuencial (figura 36).

Se observa que la fracción que obtuvo menor contenido de Cd en la muestra fue la fracción orgánica. Por otro lado la fracción de carbonatos y la fracción residual mostraron ser la que mayor cantidad de Cadmio en el suelo encontró.

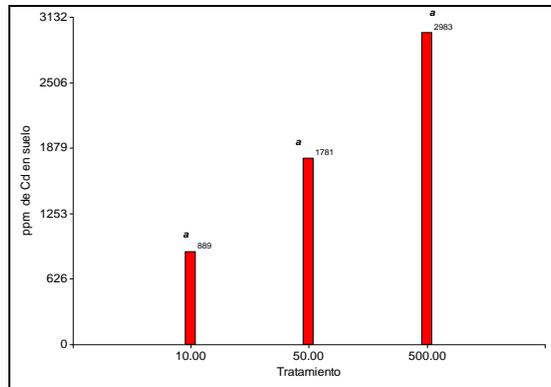


Figura 34. Efecto en el Cd encontrado por contenido de Cd aplicado al suelo.

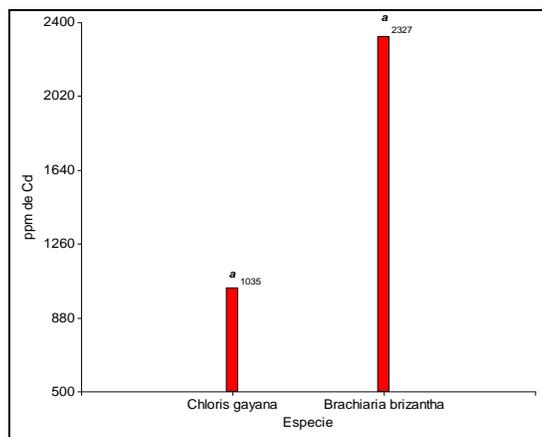


Figura 35. Efecto en el Contenido de Cd en el suelo por especie.

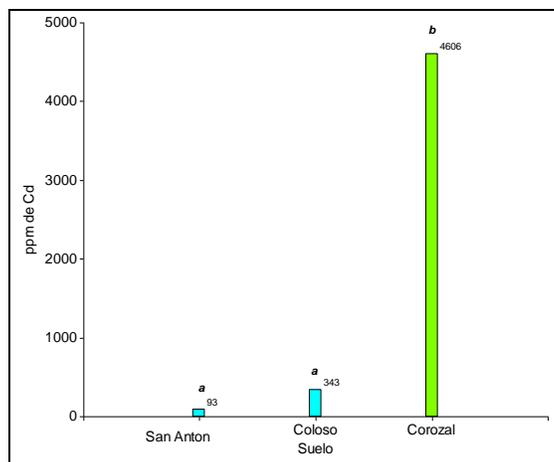


Figura 36. Efecto en el contenido de Cd en suelo por serie de Suelo.

## 7. CONCLUSION

La fitoextracción ya sea de Cd u otros metales es una técnica prometedora la cual necesita una mayor investigación, entre las que se encuentran los mecanismos de absorción. Los resultados indican ciertos comportamientos: disminución de biomasa y pobre crecimiento entre las especies forrajeras. Se dice que la toxicidad por Cd también esta correlacionada con la interferencia en la obtención de macronutrientes y micronutrientes. Síntomas de toxicidad de Cd son una biomasa reducida y en casos hasta la senescencia de la planta especialmente a 500ppm. Se puede especular que en este caso la planta sufrió una toxicidad por Cd debido a que uno de los tratamientos (500ppm) en suelo Corozal la planta murió.

Como se pudo determinar el factor pH, la capacidad de intercambio catiónico influyeron en los resultados experimentales. Mostrando que a mayor capacidad de intercambio catiónico mayor absorción a la planta en el cual en nuestro caso fue el suelo Coloso. A pH más ácido más soluble se encontrara en Cd el suelo, mostrando que suelo Corozal fue el más ácido y el que mostro mayor Cd disponible en el suelo de igual forma fue el que obtuvo mayor traslocación del metal llegando hasta el vástago.

En el caso de la absorción del vástago no fue significativa entre suelo, especie y tratamiento. De igual forma no fue significativo su peso seco entre especie. No se encontró disminución de K y Mg tanto en raíz como en vástago para ninguna de las series, especies y tratamientos.

En la disponibilidad del metal pesado en los suelos se indica que en la extracción secuencial la fracción de carbonatada y la residual mostraron ser las que mayor contenido de Cd en la solución de suelo mostró. La serie de suelo que mostro tener mayor contenido de Cd en la solución de suelo fue la serie Corozal.

También estos resultados nos ayudan a inferir que ciertos suelos o ciertas especies son mejores para la fitorremediación. A mayor peso seco la absorción por Cd fue mayor en el caso de la raíz. El suelo Coloso con la Especie *Chloris gayana* en la raíz a 500ppm de Cd, mostró tener la mayor absorción que fue de 1ppm. El cual cumple con los resultados esperados.

## Referencias

- Andersen M.K., Refsgaard A., Raulund-Rasmaussen K., Strobel B. W. and Hansen H. (2002) "Content, Distribution, and Solubility of cadmium in Arable and forest soil." Soil Science Society American Journal 66:1829-1835.
- Appel C. and Lena. (2002) . "Concentration, pH and surface charges effects on cadmium and lead sorption in three tropical soil ." Environmental Quality 31:581-589.
- Azevedo H., Gomes C., Pinto G., Fernandez J. , Loureiro S.and Santos C. (2005) . "Cadmium Effects on Sunflower Growth and Photosynthesis." Journal of Plant Nutrition 28:2211-2220.
- Longa, M. Barrios y S. (2007) ."Extraccion secuencial de Niquel, Cromo y Zinc en un suelo de la cuanca del lago de Valencia y su acumulacion en plantas de sorgo." Rev. Fac. Agron. 24:739-762.
- Berazain R., de la fuente V., Sanchez- Mata D., Rufo L., Rodriguez N., Amils R. (2007). "Nickel localization on tissues of Hyperaccumulator species of Phyllanthus L. ( Euphorbiaceae) form Ultramafic areas of Cuba." Biological Trace elements Research 115:67-85.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J. S. and Baker A. J. M. (1995). "Zinc and Cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* Grown in Nutrient Solution." Soil Science Society American Journal 59:125-133.
- Chaney R. , Angle J. S., Leigh Broadhurst C., Peters, C. A. Ryan V. Tappero and Donald L. Sparks. (2007) . "Improved Understanding of Hyperaccumulation Yields Commercial Phytoextraction and Phytomining Technologies." Environmental Quality 1-15.
- Ciura J., Poniedzialek M., Sekara A., Jedrzczyk E. (2005) . "The Possibility of Using Crops as Metal Phytoremediants." Polish Journal of Environmental Studies 1:17-22.
- Dos Santos M. and Wenzel. (2006)."Phytoextraction of metal Polluted Soils in Latin America." International Poplar Commission 18-20.
- Dong J. , Fei-bo W. and Guo- ping Z. (2005). "Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings." Journal Zhejiang University Science 6B(10): 974-980.
- Ederli L., Reale L., Ferranti F. and Pasqualini S. (2004)."Responses induced by high concentration of cadmium in *Phragmites australis* roots." Physiologia Plantarum 121: 66-74.
- EPA, U. S. environmental Protection Agency. Ground Water Issue.  
EPA/540/S-01/500.2001  
<http://www.epa.gov/>
- EPA, U. S. environmental Protection Agency. Introduction to Phytoremediation.  
EPA/600/107.2001  
<http://www.epa.gov/>

- Fernandez A. Singh A., Jaffe R. (2007). "A Literature review in trace metals and organic compounds of anthropogenic origin in Wider Caribbean Region." Marine Pollution Bulletin 54: 1681-1691.
- Fismes J., Echevarria G., Leclerc-Cessac E. and More J. L. (2005). "Uptake and Transport of Radioactive Nickel and Cadmium into Three Vegetables after Wet Aerial Contamination." Jornal of Environmental Quality 34:1497-1507.
- Gratao P. Gomes-Junior R. Delite F., Lea P. Azevedo R.(2006). Antioxidant Stress Responses of Plant to Cadmium. New Delhi, India: Narosa Publishing House.
- Hung Yu L., zueng- Sang C.(2006). Phytoremediation Techniques of Cd-Contaminated Soils: Toxicity, Enhanced Uptake Techniques, and Mechanism. New Delhi, India: Narosa Publishing House,
- Kawai, A. Kashem S.(2007). "Alleviation of Cadmium phytotoxicity by magnesium in Japanese mustard spinach." Soil Science and plant Nutrition 53:246-251.
- Knight B., Zhao F.J., McGrath S. P. and Shen Z. G. (1997). "Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution." Plant and Soil :197: 71-78
- Madrid, F., Liphadzi, M., Kirham, M. (2003). Heavy Metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. J. of Hydrol. 272: 107-119.
- Madejon, P., Murillo, J., Marañón, T. Cabrera, F., Lopez, R. (2002). Bioaccumulation of As, Cd,Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcollar mine spill (SW Spain). The Science of the Total Environment 290: 105-120.
- O'Hallorans J. M., Lindemann W. C. and Steiner R. (2004). "Iron Characterization in Manure Amended Soils." Communications in Soil Science and Plant Analysis:35:2345-2356.
- Petit C. M., Ringoet A. and Myttenaere C. (1978). "Stimulation of Cadmium Uptake in Relation to the Cadmium Content of Plants." Plant Physiology 62: 554-557.
- Raskin, D. E. Salt. R.D. Smith. (1998). "Phytoremediation." Annu. Rev. Plant Physiol. Plan Mol. Biol. 49:643-668.
- Ravishankar, B. Suresh and G. A. (2004). "Phytoremediation- A novel and Promising Approach for Environmental Clean-up." Critical Reviews in Biotechnology 24:97-124
- Reeves R. D., Baker A. J. M., Borhidi A. and Berazain R. (1996). "Nickel-accumulating plants form the ancient serpentine soils of Cuba." New Phytol. 133:217-224
- Reeves, R. D. (2003). "Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction." Plant and Soil 249:57-65.
- Salt, M. Guerinot and D. (2001). "Fortified Foods and Phytoremediation.Two sides of the Same Coin." Plant Physiology 125:164-167.
- Salt D., Prince R., Pickering I., Raskin I. (1995). "Mechanism of Cadmium Mobility and Accumulation in Indian Mustard." Plant Physiol. 190:1427-1433.

Sangabriel W., Ferrera R. , Trejo D., Remedios M., Lopez M., Samuel J., Lopez C., Delgadillo J., Alarcon A. (2006). "Tolerancia y Capacidad de Fitoremediación de Combustible en el suelo por seis especies vegetales." Rev. Inte. Contam. Ambiental 63-73.

Sheorans I. S, Aggarwal N. and Singh R. (1990). "Effects of cadmium and nickel in vivo carbon dioxide exchange rate of pigeon pea." Plant and Soil 129:243-249.

Souza J. F., Rauser W. E.. "Maize and radish excess cadmium and zinc in different ways." Plant Science 165:1009-1022.

Tessier A., Campbell P. G. C. and Bisson M. (2003). "Sequential Extraction Procedure for Speciation of Particulate Trace Metals." Analytical Chemistry (1979): 51:844-851.

Vassilev A., Yordanov I., Vnagronsveld J. (2006). Cadmium Phytoextraction from Contaminated Soils. New Delhi, India: Narosa Publishing House.

Wang A., Angle J. S, Chaney R. L., Delorme T. A. (2006). "Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*." Plant and Soil 281:325-337.

Wenzel, M. Dos Santos and W. (2006) "Phytoextraction of Metal polluted Soils in Latin America." International Poplar Commission 18-20.

Wu F., Dong J. Chen F. and G. Zhang. (2005). "Response of Cadmium Uptake in Different Barley Genotypes of Cadmium Level." Journal of Plant Nutrition 28:2201-2209.

Zhang M., Zhou C. and Huang C. (2006). "Relationship Between Extractable Metals in Acid soils and Metals Taken Up by Tea Plants." Communications in Soil Science and Plant Analysis 37:347-361.

## APÉNDICES

## **Apéndice A: ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

## Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Cd en Vástago	96	0.49	0.33	140.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.42	23	0.06	3.05	0.0002
Suelo	0.16	2	0.08	3.87	0.0252
Especie	0.04	1	0.04	2.05	0.1563
Contenido de Cd	0.52	3	0.17	8.51	0.0001
Suelo*Especie	0.06	2	0.03	1.39	0.2547
Suelo*Contenido de Cd	0.23	6	0.04	1.92	0.0899
Especie*Contenido de Cd	0.32	3	0.11	5.22	0.0026
Suelo*Especie*Contenido de Cd	0.10	6	0.02	0.81	0.5630
Error	1.46	72	0.02		
Total	2.88	95			

## Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Cd en Raíz	96	0.69	0.60	93.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7.19	23	0.31	7.12	<0.0001
Suelo	3.5E-03	2	1.7E-03	0.04	0.9612
Especie	0.50	1	0.50	11.46	0.0012
Contenido de Cd	3.99	3	1.33	30.29	<0.0001
Suelo*Especie	0.21	2	0.11	2.44	0.0942
Suelo*Contenido de Cd	0.77	6	0.13	2.93	0.0130
Especie*Contenido de Cd	0.84	3	0.28	6.34	0.0007
Suelo*Especie*Contenido de Cd	0.87	6	0.15	3.31	0.0062
Error	3.16	72	0.04		
Total	10.35	95			

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Crecimiento 7 semana	96	0.80	0.73	29.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	53706.87	23	2335.08	12.32	<0.0001
Suelo	13260.16	2	6630.08	34.98	<0.0001
Especie	9174.82	1	9174.82	48.40	<0.0001
Contenido de Cd	26605.05	3	8868.35	46.78	<0.0001
Suelo*Especie	441.26	2	220.63	1.16	0.3181
Suelo*Contenido de Cd	1334.19	6	222.37	1.17	0.3303
Especie*Contenido de Cd	2099.05	3	699.68	3.69	0.0157
Suelo*Especie*Contenido de..	792.35	6	132.06	0.70	0.6531
Error	13648.56	72	189.56		
Total	67355.43	95			

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Numero de hojas	96	0.69	0.59	51.70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9928.46	23	431.67	6.92	<0.0001
Suelo	413.15	2	206.57	3.31	0.0420
Especie	4873.50	1	4873.50	78.18	<0.0001
Contenido de Cd	2598.13	3	866.04	13.89	<0.0001
Suelo*Especie	121.19	2	60.59	0.97	0.3832
Suelo*Contenido de Cd	494.44	6	82.41	1.32	0.2586
Especie*Contenido de Cd	738.83	3	246.28	3.95	0.0115
Suelo*Especie*Contenido de..	689.23	6	114.87	1.84	0.1028
Error	4488.50	72	62.34		
Total	14416.96	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
peso seco vástago	96	0.01	2.3E-03	68.77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	84.39	1	84.39	1.22	0.2722
Especie	84.39	1	84.39	1.22	0.2722
Error	6502.35	94	69.17		
Total	6586.75	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.37086

Error: 69.1740 gl: 94

Especie	Medias	n	E.E.
Brachiaria	11.16	48	1.20 A
CHLO	13.03	48	1.20 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
peso seco raíz	96	0.14	0.13	75.52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	147.24	1	147.24	14.91	0.0002
Especie	147.24	1	147.24	14.91	0.0002
Error	928.30	94	9.88		
Total	1075.54	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.27365

Error: 9.8756 gl: 94

Especie	Medias	n	E.E.
Brachiaria	2.92	48	0.45 A
CHLO	5.40	48	0.45 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	96	0.93	0.91	5.94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	136.24	23	5.92	45.02	<0.0001
Suelo	131.57	2	65.79	500.03	<0.0001
Especie	0.41	1	0.41	3.10	0.0824
Contenido de Cd	1.31	3	0.44	3.32	0.0245
Suelo*Especie	0.28	2	0.14	1.08	0.3447
Suelo*Contenido de Cd	0.97	6	0.16	1.22	0.3039
Especie*Contenido de Cd	0.57	3	0.19	1.44	0.2396
Suelo*Especie*Contenido de..	1.13	6	0.19	1.43	0.2147
Error	9.47	72	0.13		
Total	145.71	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.18077

Error: 0.1316 gl: 72

Suelo	Medias	n	
Corozal	4.46	32	A
SA	6.74	32	B
Coloso	7.11	32	C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH antes	9	0.99	0.99	2.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16.67	2	8.33	267.89	<0.0001
Suelo	16.67	2	8.33	267.89	<0.0001
Error	0.19	6	0.03		
Total	16.86	8			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.35240

Error: 0.0311 gl: 6

Suelo	Medias	n	
Corozal	4.90	3	A
SA	7.70	3	B
Coloso	7.87	3	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
CIC	96	0.55	0.41	54.17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8925.37	23	388.06	3.83	<0.0001
Suelo	6247.66	2	3123.83	30.83	<0.0001
Especie	152.32	1	152.32	1.50	0.2241
Contenido de Cd	253.41	3	84.47	0.83	0.4797
Suelo*Especie	805.44	2	402.72	3.97	0.0230
Suelo*Contenido de Cd	899.16	6	149.86	1.48	0.1975
Especie*Contenido de Cd	294.01	3	98.00	0.97	0.4130
Suelo*Especie*Contenido de Cd	273.37	6	45.56	0.45	0.8429
Error	7294.73	72	101.32		
Total	16220.10	95			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=5.01633

Error: 101.3156 gl: 72

Suelo	Medias	n	
Corozal	8.27	32	A
SA	19.52	32	B
Coloso	27.96	32	C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Ca	96	0.55	0.40	57.77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8147.57	23	354.24	3.78	<0.0001
Suelo	5926.34	2	2963.17	31.61	<0.0001
Especie	87.76	1	87.76	0.94	0.3365
Contenido de Cd	170.79	3	56.93	0.61	0.6124
Suelo*Especie	611.98	2	305.99	3.26	0.0440
Suelo*Contenido de Cd	766.97	6	127.83	1.36	0.2410
Especie*Contenido de Cd	274.83	3	91.61	0.98	0.4084
Suelo*Especie*Contenido de..	308.90	6	51.48	0.55	0.7690
Error	6749.99	72	93.75		
Total	14897.56	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Mg	96	0.72	0.63	27.14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33.50	23	1.46	8.12	<0.0001
Suelo	28.07	2	14.03	78.20	<0.0001
Especie	0.59	1	0.59	3.30	0.0734
Contenido de Cd	0.40	3	0.13	0.74	0.5336
Suelo*Especie	0.43	2	0.22	1.21	0.3052
Suelo*Contenido de Cd	2.78	6	0.46	2.58	0.0254
Especie*Contenido de Cd	0.68	3	0.23	1.27	0.2918
Suelo*Especie*Contenido de..	0.55	6	0.09	0.51	0.7980
Error	12.92	72	0.18		
Total	46.42	95			

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
K	96	0.64	0.53	34.86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.61	23	0.11	5.66	<0.0001
Suelo	1.63	2	0.81	40.65	<0.0001
Especie	0.03	1	0.03	1.34	0.2511
Contenido de Cd	0.23	3	0.08	3.79	0.0139
Suelo*Especie	0.04	2	0.02	0.99	0.3767
Suelo*Contenido de Cd	0.17	6	0.03	1.41	0.2214
Especie*Contenido de Cd	0.28	3	0.09	4.68	0.0048
Suelo*Especie*Contenido de..	0.23	6	0.04	1.94	0.0860
Error	1.44	72	0.02		
Total	4.05	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% K en Raiz	96	0.56	0.41	55.28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	43.82	23	1.91	3.91	<0.0001
Suelo	2.27	2	1.14	2.33	0.1041
Especie	7.74	1	7.74	15.89	0.0002
Contenido de Cd	16.13	3	5.38	11.04	<0.0001
Suelo*Especie	0.82	2	0.41	0.84	0.4367
Suelo*Contenido de Cd	1.12	6	0.19	0.38	0.8879
Especie*Contenido de Cd	12.32	3	4.11	8.44	0.0001
Suelo*Especie*Contenido de..	3.42	6	0.57	1.17	0.3308
Error	35.05	72	0.49		
Total	78.87	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% K en Vastago	96	0.58	0.44	33.93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	81.42	23	3.54	4.26	<0.0001
Suelo	18.38	2	9.19	11.05	0.0001
Especie	24.74	1	24.74	29.74	<0.0001
Contenido de Cd	13.73	3	4.58	5.50	0.0018
Suelo*Especie	6.96	2	3.48	4.19	0.0191
Suelo*Contenido de Cd	7.73	6	1.29	1.55	0.1747
Especie*Contenido de Cd	1.20	3	0.40	0.48	0.6974
Suelo*Especie*Contenido de..	8.68	6	1.45	1.74	0.1240
Error	59.88	72	0.83		
Total	141.30	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% Mg en Raiz	96	0.49	0.33	39.83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.71	23	0.03	3.00	0.0002
Suelo	0.37	2	0.18	17.73	<0.0001
Especie	0.03	1	0.03	2.61	0.1108
Contenido de Cd	0.03	3	0.01	0.93	0.4308
Suelo*Especie	0.03	2	0.01	1.22	0.3021
Suelo*Contenido de Cd	0.07	6	0.01	1.20	0.3172
Especie*Contenido de Cd	0.13	3	0.04	4.26	0.0079
Suelo*Especie*Contenido de..	0.06	6	0.01	0.95	0.4632
Error	0.75	72	0.01		
Total	1.46	95			

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% Mg en Vástago	96	0.77	0.69	33.97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.69	23	0.07	10.26	<0.0001
Suelo	4.1E-04	2	2.0E-04	0.03	0.9719
Especie	1.04	1	1.04	145.53	<0.0001
Contenido de Cd	0.30	3	0.10	13.93	<0.0001
Suelo*Especie	1.1E-03	2	5.5E-04	0.08	0.9257
Suelo*Contenido de Cd	0.09	6	0.01	2.00	0.0761
Especie*Contenido de Cd	0.18	3	0.06	8.39	0.0001
Suelo*Especie*Contenido de..	0.08	6	0.01	1.87	0.0978
Error	0.52	72	0.01		
Total	2.21	95			

Análisis de la varianza  
Extracción secuencial

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
KNO3	23	0.11	0.00	363.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3194398.88	3	1064799.63	0.82	0.5002
Tratamiento	3194398.88	3	1064799.63	0.82	0.5002
Error	24751920.18	19	1302732.64		
Total	27946319.06	22			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1411.03834

Error: 1302732.6410 gl: 19

Tratamiento	Medias	n	
50.00	56.02	5	A
0.00	98.04	6	A
10.00	119.30	6	A
500.00	940.41	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Agua deionizada	24	0.08	0.00	298.17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	307939.55	3	102646.52	0.55	0.6522
Tratamiento	307939.55	3	102646.52	0.55	0.6522
Error	3714558.01	20	185727.90		
Total	4022497.56	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=519.02052

Error: 185727.9006 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	
0.00	30.64	6	A
10.00	32.16	6	A
500.00	249.84	6	A
50.00	265.51	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
NaOH	24	0.01	0.00	169.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	578.50	3	192.83	0.05	0.9836
Tratamiento	578.50	3	192.83	0.05	0.9836
Error	73380.34	20	3669.02		
Total	73958.84	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=72.94925

Error: 3669.0170 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	
500.00	29.43	6	A
50.00	33.02	6	A
10.00	38.01	6	A
0.00	42.38	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
NaEDTA	24	0.03	0.00	153.27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	675798.47	3	225266.16	0.22	0.8796
Tratamiento	675798.47	3	225266.16	0.22	0.8796
Error	20248140.47	20	1012407.02		
Total	20923938.94	23			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1211.77929

Error: 1012407.0237 gl: 20

Tratamiento	Medias	n	
10.00	477.62	6	A
0.00	500.98	6	A
50.00	806.79	6	A
500.00	840.51	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HNO3	23	0.10	0.00	200.68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1799827.87	3	599942.62	0.69	0.5691
Tratamiento	1799827.87	3	599942.62	0.69	0.5691
Error	16510102.29	19	868952.75		
Total	18309930.15	22			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1152.41591

Error: 868952.7519 gl: 19

Tratamiento	Medias	n	
10.00	222.21	6	A
50.00	285.87	5	A
0.00	397.29	6	A
500.00	922.93	6	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)