

**POTENCIAL DE BIOACUMULACIÓN DE MERCURIO (Hg) POR CAÑA
FLECHA (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv EN CONDICIONES *IN VITRO*.**

RAFAEL ESTEBAN ORTEGA ORTEGA B.Sc.



**SISTEMA DE UNIVERSIDADES ESTATALES DEL
CARIBE COLOMBIANO, SUE-CARIBE
MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES
SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
2011**

**POTENCIAL DE BIOACUMULACIÓN DE MERCURIO (Hg) POR CAÑA
FLECHA (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv EN CONDICIONES *IN VITRO*.**

RAFAEL ESTEBAN ORTEGA ORTEGA B.Sc.

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Magíster
en Ciencias Ambientales**



JAVIER DARIO BELTRAN HERRERA, Ph. D.

Director.



**SISTEMA DE UNIVERSIDADES ESTATALES DEL
CARIBE COLOMBIANO, SUE-CARIBE
MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES
SEDE UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
2011**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente del jurado

Firma de jurado

Firma de jurado

Firma de jurado

Cartagena, DT y C, Mayo de 2011

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por guiarme, fortalecerme y mostrarme la luz al final del camino.

A la Universidad de Sucre por su formación y colaboración para poder realizar este estudio.

A mi profesor, tutor y gran amigo Javier Darío Beltrán por su confianza y apoyo.

Al Grupo de Investigación en Biotecnología Vegetal del Universidad de Sucre (BIOVUS), por su compañerismo y apoyo.

A la Universidad de Córdoba y especial al Doctor José Luis Marrugo, por su valiosa colaboración con el análisis de las muestras.

Agradezco de manera especial al químico José Joaquín Pinedo por toda su colaboración en cuanto a la realización de los análisis de mercurio, destacando su disponibilidad, celeridad y muchas veces, paciencia.

A todas aquellas personas que de una u otra forma pusieron un granito de arena para lograr culminar este trabajo de grado, a ellos y ellas,

¡MUCHAS GRACIAS!

DEDICATORIA

Dedico esta obra a Dios,

A mi hijo Rafael Ángel,

A mi esposa Marisella por su incondicional apoyo y por su legítimo amor,

A Papi Esteban, la memoria de Mami Onia (q.e.p.d.) y mi hermana Mariela (q.e.p.d.),

A toda mi familia, mil gracias por poder contar con ustedes.

A handwritten signature in black ink, reading "Rafael E. Ortega". The signature is written in a cursive style with a large, sweeping flourish at the end.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE GRÁFICAS	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACIÓN	2
4. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE	4
4.1 El mercurio	4
4.2 El mercurio en el ambiente	5
4.3 Mercurio y salud humana	6
4.4 Minería y el mercurio	7
4.5 Fitorremediación	8
4.5.1 Mecanismos y fases de la Fitorremediación	9
4.5.2 Plantas que pueden ser utilizadas para la Fitorremediación	12
4.5.3 Plantas hiperacumuladoras.	13
4.6 Fitotoxicidad	14
4.6.1 Fitotoxicidad del mercurio.	15
4.7 Espectroscopía de Absorción Atómica por vapor frío	16
4.8 El cultivo de tejidos vegetales	17
4.9 Caña flecha	20
4.9.1 Características morfológicas	21
5. METODOLOGÍA	22
5.1 Material vegetal	22
5.2 Montaje de las pruebas con el mercurio	23
5.3 Muestreo y análisis de las plantas	23
5.4 Control de calidad del método	23
5.4.1 Linealidad	24

5.4.2 Exactitud	25
5.4.3 Precisión	25
5.4.4 Límite de detección (LD)	26
5.5 Fitotoxicidad.	26
5.6 Manejo y análisis de datos.	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
6.1 Bioacumulación de mercurio en los tejidos de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	27
6.2 Efecto de la concentración en la bioacumulación de HgT en los tejidos de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	30
6.3 Cinética de bioacumulación de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	31
6.4 Capacidad bioacumuladora de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	33
6.5 Coeficiente de absorción biológica de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	37
6.6 Coeficiente de bioacumulación de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	38
6.7 Fitotoxicidad del Hg en las plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv.</i>	39
7. CONCLUSIONES	44
8. RECOMENDACIONES	45
10. BIBLIOGRAFÍA	46
Anexos	62

LISTA DE GRÁFICAS

- Gráfica 1. Curva de calibración para las determinaciones de HgT en matrices ambientales por espectroscopía de absorción atómica usando el método de vapor frío. 25
- Gráfica 2. Concentración de HgT en raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 28
- Gráfica 3. Concentración de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días 28
- Gráfica 4. Correlación entre la concentración de HgT en las raíces y los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 29
- Gráfica 5. Cinética de bioacumulación de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 32
- Gráfica 6. Cinética de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 33
- Gráfica 7. Capacidad bioacumuladora de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 34
- Gráfica 8. Capacidad bioacumuladora de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 34
- Gráfica 9. Translocación de HgT desde las raíces hasta los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 35
- Gráfico 10. Ilustración de la banda de caspary en la punta de la raíz de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*. 36
- Gráfica 11. Coeficiente de absorción biológica de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días. 37
- Gráfica 12. Coeficiente de absorción biológica de HgT en los tallos-hojas

de de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	37
Gráfica 13. Coeficiente de bioacumulación de HgT en las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	38
Gráfica 14. Coeficiente de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	39
Gráfica 15. Fitotoxicidad expresada en porcentajes de clorosis en las plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	40
Gráfica 16. Fitotoxicidad expresada en porcentajes de necrosis en las plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos evaluados en la determinación del potencial acumulador de mercurio total por parte de <i>Gynerium sagittatum</i> (aubl) <i>beauv</i> .	23
Tabla 2. Determinaciones de HgT para los materiales certificados de referencia.	25
Tabla 3. Límites de detección del método (LDM) para la matriz de interés.	26
Tabla 4. Ecuación matemática y coeficiente de correlación obtenidos al aplicar la regresión lineal a los datos derivados de la cinética de acumulación de HgT en las raíces de <i>Gynerium sagittatum</i> (aubl) <i>beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	32
Tabla 5. Ecuación matemática y coeficiente de correlación obtenidos al aplicar la regresión lineal a los datos derivados de la cinética de acumulación de HgT en los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum</i> (aubl) <i>beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.	33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Características morfológicas típicas de la familia de las Poaceas.	63
Anexo 2. Composición del medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) (1962)	64
Anexo 3. Procedimiento de digestión y análisis de las muestras por el método de espectroscopia de absorción atómica de vapor frío.	65
Anexo 4. Esquema de la determinación de HgT por el método de espectroscopia de absorción atómica de vapor frío.	66
Anexo 5. Equipo acoplado a vapor frío.	67
Anexo 6. Concentraciones de HgT obtenidas al realizar el análisis de las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días.	68
Anexo 7. Concentraciones de HgT obtenidas al realizar el análisis de los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días.	69
Anexo 8. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.	70
Anexo 9. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.	71
Anexo 10. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.	72
Anexo 11. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días	73
Anexo 12. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.	74
Anexo 13. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.	75

Anexo 14. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de 5 µg g ⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.	76
Anexo 15. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de 10 µg g ⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.	76
Anexo 16. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de 15 µg g ⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.	77
Anexo 17. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de 25 µg g ⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.	77
Anexo 18. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de 75 µg g ⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.	78
Anexo 19. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a una solución de 5 µg g ⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.	78
Anexo 20. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a una solución de 10 µg g ⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.	79
Anexo 21. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a una solución de 15 µg g ⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.	79
Anexo 22. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a una solución de 25 µg g ⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.	80
Anexo 23. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestos a una solución de 75 µg g ⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.	80
Anexo 24. Cinética de acumulación de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> (µg g ⁻¹ HgT).	81
Anexo 25. Capacidad acumuladora de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> en porcentajes (%).	81

Anexo 26. Coeficiente de absorción biológica de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i>	81
Anexo 27. Coeficiente de acumulación de HgT en <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i>	81
Anexo 28. Fitotoxicidad en las plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días expresada en porcentaje (%) de clorosis	82
Anexo 29. Fitotoxicidad en las plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días expresada en porcentaje (%) de necrosis.	83
Anexo 30. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.	84
Anexo 31. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.	85
Anexo 32. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.	86
Anexo 33. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.	87
Anexo 34. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.	88
Anexo 35. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.	89
Anexo 36. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante	

20, 40 y 60 días.	90
Anexo 37. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	90
Anexo 38. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	91
Anexo 39. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	91
Anexo 40. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	92
Anexo 41. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	92
Anexo 42. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	93
Anexo 43. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	93
Anexo 44. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	94
Anexo 45. Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de <i>Gynerium sagittatum (aubl) beauv</i> expuestas a una solución de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.	94
Anexo 46. Fitotoxicidad del Hg en las plantas de <i>Gynerium sagittatum</i>	

(*aubl*) *beauv*, muerte descendente de las hojas desde el ápice hasta la base de las hojas.

RESUMEN

Los metales pesados, y en general los elementos traza, están presentes en concentraciones relativamente bajas ($X < \text{mgKg}^{-1}$) en la corteza terrestre, los suelos y las plantas. 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 antropogénicos derivan de residuos peligrosos, procedentes de actividades industriales, minería e industria agrícola, y residuos sólidos urbanos. La contaminación en el suelo, trae como consecuencia la pérdida de fertilidad y capacidad biodegradadora, así como de otras funciones que directa o indirectamente permiten la supervivencia de la flora y fauna, afectando de cualquier forma la salud del hombre. El mercurio, genera uno de los mayores problemas ambientales actuales debido a su alta toxicidad y capacidad para bioacumularse y biomagnificarse. En Colombia, la mayor zona de explotación minera de oro, se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar con más de 12.400 minas en explotación, involucrando a un número de personas superior a 50.000 que reciben influencia directa o indirecta de esta actividad. La cantidad de mercurio liberado al ambiente en esta actividad no ha sido calculada con exactitud, pero ha sido estimada en cerca de 80 a 100 toneladas al año.

En este estudio se evaluó la capacidad de acumulación de mercurio (Hg) que pueda poseer la caña flecha (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv *in vitro* como una alternativa viable de ser implementada para la rehabilitación de suelos contaminados, fue realizado en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre (9°18' N, 75°23' O). Usándose un diseño experimental de bloques al azar, un análisis de varianza para comparación de medias, una prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para establecer las diferencias significativas entre los tratamientos. Los análisis de mercurio se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Electron S4, provisto de una celda con ventanas de cuarzo, por el método de espectroscopia de absorción atómica con vapor frío. Los resultados muestran que la parte de la planta que presenta mayor acumulación es la raíz con $55,98 \mu\text{g g}^{-1} \text{HgT}$, seguida de los tallos-hojas con $14,84 \mu\text{g g}^{-1} \text{HgT}$. Además, la acumulación de mercurio en raíces y tallos aumentó con el tiempo. En conclusión, *in vitro* esta planta acumula Hg debido a las altas concentraciones en sus tejidos, sin afectar la viabilidad de las plantas. El uso del cultivo de tejidos *in vitro* en fitorremediación es un sistema modelo para establecer el potencial de acumulación, permitiendo la comprensión de los mecanismos metabólicos que funcionan en las plantas y la predicción de la eficacia con que podrían funcionar ciertas plantas fitorremediadoras en condiciones *in vivo* o en condiciones de campo.

ABSTRACT

Heavy metals and trace elements generally are present in concentrations relatively low ($X < \text{mgKg}^{-1}$) in the earth's crust, soil and plants. The presence of harmful concentrations (anomalies) in soil degradation is a special one called pollution. Trace elements in soils can be geogenic or anthropogenic origin. Geogenic source items come from the bedrock, volcanic activity, or the leaching of ores. Heavy metals derived from anthropogenic hazardous waste from industrial activities, mining and agricultural industry, and municipal solid waste. The contaminations in the soil, results in the loss of fertility and biodegraded, as well as other functions that directly or indirectly allow the survival of flora and fauna, affecting in any way human health. The mercury generates one of the greatest environmental challenges today due to its high toxicity and ability to bioaccumulate and biomagnify. In Colombia, the largest area of gold mining, is located between northern Antioquia and southern Bolivar over 12,400 mines in operation, involving a number of over 50,000 people who receive direct or indirect influence of this activity. The amount of mercury released into the environment in this activity has not been calculated exactly, but it has been estimated at about 80 to 100 tons per year.

In this study was evaluated the potential for accumulation of mercury (Hg) that can hold the cane arrow (*Gynerium sagittatum*) (Aubl) Beauv *in vitro* as a viable alternative to be implemented for the rehabilitation of contaminated soils, was conducted at the Plant Biotechnology Laboratory, University of Sucre (9° 18' N, 75° 23' W). An experimental design was randomized block, an analysis of variance to compare means, Tukey test ($p \leq 0.05$) to establish significant differences between the treatments. The mercury analyses were performed on atomic absorption spectrophotometer Thermo Electron S4, a cell equipped with quartz windows, by the method of atomic absorption spectrometry with cold steam. The results show that the plant part that presents the greatest accumulation is the root with 55.98 mg g^{-1} HgT, followed by the stems, leaves 14.84 g g^{-1} HgT. Furthermore, the accumulation of mercury in roots and stems increased with time. In conclusion, *in vitro* this plant accumulates due to the high Hg concentrations in their tissues without affecting the viability of plants. The use of *in vitro* tissue culture in phytoremediation is a model system to establish the potential of accumulation, allowing the understanding of metabolic pathways operating in plants and predict the effectiveness with which they could operate certain phytoremediation plants under *in vivo* conditions or under field conditions.

1. INTRODUCCIÓN.

Los metales pesados son quizás los agentes tóxicos más conocidos desde la antigüedad. En los últimos años se ha incrementado el conocimiento concerniente a los potenciales efectos tóxicos y mecanismos de acción de los iones metálicos, los compuestos inorgánicos y organometálicos que constituyen parte de los productos y subproductos tecnológicos (Repetto, 1995; Andrews, 2000; Kosnett, 2010). A la vista de la diversidad de problemas que plantea la contaminación medio ambiental con metales pesados, las alternativas para su solución no han proporcionado soluciones definitivas a este problema (Barregard *et al.*, 1999; Alkorta *et al.*, 2010; Tabari *et al.*, 2010).

Entre los metales pesados más tóxicos se encuentra el mercurio (Hg) utilizado ampliamente en la minería del oro, causando un gran efecto contaminante tanto en las aguas y terrenos como en los propios trabajadores que manipulan el mercurio y sus familias (López *et al.*, 2005). El Hg genera uno de los mayores problemas ambientales actuales debido a su alta toxicidad y capacidad para bioacumularse y biomagnificarse (Zheng *et al.*, 2008), por lo que altera el equilibrio ecológico y genera graves problemas de salud pública.

Las concentraciones de mercurio en los compartimientos ambientales aumentan continuamente ya que puede acumularse en plantas, pasar a los animales y por último a los seres humanos (Islam *et al.*, 2007; Ullrich *et al.*, 2007). Este contaminante está relacionado con daños severos al sistema nervioso central, teratogénesis, así como afecciones a hígado y riñones (Magos, 2003; Bocayuva *et al.*, 2005; Moreno *et al.*, 2006; Nóvoa *et al.*, 2008).

En Colombia, principalmente en la Costa Norte Colombiana, no existe un planeamiento ambiental con alternativas viables y económicas para recuperar zonas contaminadas con mercurio, convirtiéndose en problema regional y nacional con graves impactos en la salud pública (Barregard *et al.*, 1999; Ibáñez y Montoro, 1996; Olivero y Johnson, 2002).

Debido a los problemas de salud humana que representa el contacto con suelos contaminados con metales pesados, se evalúan alternativas de tratamiento de los suelos contaminados, a través de la extracción de los metales del suelo y su recuperación mediante la fitorremediación (Barregard *et al.*, 1999; Ibáñez y Montoro, 1996; López *et al.*, 2005).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Por lo anotado de forma introductoria, surge el interés y la necesidad de colaborar con la naturaleza para revertir el efecto de los contaminantes en los ecosistemas colombianos. En Colombia, la mayor zona de explotación minera de oro se encuentra ubicada entre el norte de Antioquia y sur de Bolívar con más de 12.400 minas en explotación, involucrando a un número de personas superior a 50.000 que reciben influencia directa o indirecta de esta actividad (Unidad de Planeación Minera Energética, 2001). La cantidad de mercurio liberado al ambiente en esta actividad no ha sido calculada con exactitud, pero ha sido estimada en cerca de 80 a 100 toneladas al año. El manejo inadecuado de este metal ha conllevado a la contaminación de suelos, sedimentos, cuerpos de agua y demás compartimientos ambientales (Olivero y Johnson, 2002).

Por lo tanto, es necesario, como habitantes de la región y conocedores de estas problemáticas, asumir nuestras responsabilidades académicas en el contexto de la responsabilidad social, buscando alternativas con base en nuestros propios recursos humanos y naturales. En tal sentido, este trabajo tuvo como objetivo evaluar el potencial acumulador de mercurio por *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* en condiciones de cultivo *in vitro*.

3. JUSTIFICACION.

La mayoría de las aproximaciones convencionales no han proporcionado soluciones definitivas al problema de contaminación medio ambiental con metales pesados como Pb, Cd, Hg, Cr, entre otros. La restauración ambiental implica la selección, justificación, optimización y aplicación de las técnicas adecuadas para la recuperación de áreas afectadas. Debido a los problemas de salud que representa el exponerse a suelos

contaminados con los metales se ha decidido explorar una alternativa de tratamiento de los mismos, mediante la extracción de metales del suelo y su recuperación usando la biorremediación, es decir “el proceso de remediar desastres ecológicos mediante medidas y aplicaciones biológicas” (Hernández *et al.*, 2006; Bhatia *et al.*, 2005; Berazaín *et al.*, 2007). Es preciso agregar que por su versatilidad, bajo costo y eficiencia, se considera la alternativa biológica más prometedora en el tratamiento de suelos y acuíferos contaminados por xenobióticos (Wu *et al.*, 2007).

Entre las diferentes opciones técnicas de biorremediación, la fitorremediación ocupa un lugar importante porque es una tecnología emergente basada en la acción combinada de plantas (terrestres o acuáticas) (Wetzel *et al.* 1997; Prabha y Loretta, 2007). Parte de estas metodologías, denominadas fitotecnologías, consideran el uso de las plantas, debido a su bajo impacto medioambiental, bajo costo, eficiencia y gran aceptabilidad entre el público (Chaney *et al.*, 1997; Iskandar y Adriano, 1997; Kovacik *et al.*, 2006; Ghaderian *et al.*, 2007). Lo que hace sobresaliente a esta técnica frente a los métodos convencionales de “limpieza” ambiental es que las plantas cultivadas en suelos contaminados absorben en general más oligoelementos y la concentración de éstos en los tejidos vegetales está a menudo directamente relacionada con su abundancia en los suelos, y especialmente en la solución húmeda (Kabata y Pendías, 2001; Palomino *et al.*, 2007).

Su impacto regenerativo es otra de sus cualidades, aunque está condicionado por el daño causado sobre el área tratada. Algunas veces el éxito es rápido y sencillo de obtener, pero en otras la complejidad química de los contaminantes supera la capacidad de los organismos para metabolizarlos. En estos casos, el proceso tarda varios años, en ocasiones ni siquiera se logra la completa degradación de los agentes nocivos (Wu *et al.*, 2007).

Severín (2000) referencia a *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* como una planta que elimina tanto componentes inorgánicos como componentes orgánicos de aguas residuales. En la actualidad no se conocen estudios realizados sobre la capacidad fitorremediadora de mercurio (Hg) que pueda poseer esta planta, lo cual se puede considerar como una desestimación del potencial que tiene esta especie regional, pudiendo ocupar un lugar importante en esta tecnología emergente. Esta especie es

recurso existente en la zona indígena de los departamentos de Córdoba y Sucre, la Costa Norte y los valles de muchos ríos colombianos (Sehuanes y Flórez, 2003). Aunque se conocen algunos antecedentes de otras cañas para la eliminación de metales pesados y de residuos orgánicos como el carrizo (*Phragmites australis*) (Martínez *et al.*, 2005), no se han realizado estudios de fitorremediación en esta especie.

4. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE.

Una de las principales actividades antropogénicas que ha contribuido a que exista un alto grado de contaminación de los suelos por metales pesados a nivel mundial es la minería, ya que es una actividad económica que se practica al menos en 158 países (Hinde, 2000; UNEP, 2000; Rattner, 2009; Huang *et al.*, 2010). En Latinoamérica se explota una gran variedad de metales que ineludiblemente generan residuos debido a las prácticas artesanales y el manejo inadecuado de los residuos generados, como también la inexistencia de normas precisas que regulen las emisiones de los metales a los ecosistemas. Los principales impactos ambientales asociados a esta actividad son diversos, resaltando el deterioro visual del paisaje, la disposición inadecuada de residuos sólidos y líquidos que se caracterizan por contener concentraciones altas de metales pesados de elevada toxicidad como Pb, Cd, Hg y Cr, aumentando el riesgo de contaminar los elementos del ecosistema, poniendo en riesgo la salud pública y el ambiente en general (Fernández *et al.*, 2001; Eisler, 2004; Novais y Câmara, 2009; Pizarro *et al.*, 2010).

4.1 El Mercurio.

El mercurio es un elemento químico, cuyo nombre y abreviatura (Hg) proceden del latín *hydrargirium*, número atómico 80 y peso atómico 200.59. Es un líquido blanco, plateado a temperatura ambiente (punto de fusión -37.46°F); ebulle a 357°C (675.05°F) a presión atmosférica. Es un metal noble, soluble únicamente en soluciones oxidantes. Forma soluciones llamadas amalgamas con todos los metales incluyendo oro, plata, platino, uranio, cobre, plomo, sodio y potasio y en sus compuestos se encuentra en los estados de oxidación +1 y +2 (Baughman, 2006).

El mercurio existe en diferentes especies químicas, ya sea de manera elemental, o formando compuestos inorgánicos y orgánicos. En su forma elemental (Hg^0) tiene como estado de oxidación 0 y es la especie menos tóxica. En la formación de compuestos, el mercurio puede presentarse como ión mercúrico o mercurio (II), Hg^{2+} ; e ion mercurioso o mercurio (I), $(\text{Hg-Hg})^{2+}$, donde los átomos están formando un enlace metal – metal y cada átomo tiene una carga positiva de +1. Entre los compuestos donde el mercurio posee monovalencia se encuentra el cloruro de mercurio (I) (Hg_2Cl_2), mientras que el mercurio divalente se presenta en compuestos inorgánicos como cloruro de mercurio (II) (HgCl_2), y orgánicos como metilmercurio (CH_3Hg^+), etilmercurio ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$) y fenilmercurio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$). Cabe destacar que el enlace carbono-mercurio (Hg-C) de los compuestos organomercuriales no es un enlace fuerte (cerca de 60 kJ/mol), pero es más estable frente al enlace mercurio-oxígeno (Hg-O). Esto ayuda a explicar porqué los compuestos organometálicos de mercurio son estables al oxígeno y al agua y por lo tanto, persistentes en el ambiente (Jing *et al.*, 2007; Shaban, *et al.*, 2008).

Las especies mercuriales difieren entre sí en sus solubilidades en agua. Algunas sales de mercurio (II), por ejemplo, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ o $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$, son muy solubles en agua y por lo general están dissociadas; las soluciones acuosas de estas sales reaccionan como ácidos fuertes a causa de la hidrólisis que ocurre. Otras sales de mercurio como HgCl_2 o $\text{Hg}(\text{CN})_2$, también se disuelven en agua, pero en solución sólo están poco dissociadas (Hinton y Veiga, 2001; Liu *et al.*, 2008).

4.2 El mercurio en el ambiente.

El mercurio entra al medio ambiente como resultado de la ruptura de minerales de rocas y suelos a través de la exposición al viento y agua. La liberación de mercurio desde fuentes naturales ha permanecido constante a través del tiempo. Sin embargo, las concentraciones de mercurio en el medio ambiente han crecido debido a la actividad humana (Reimann y De Carita, 2005). La mayoría del mercurio originado por las actividades antropogénicas es liberado al aire, a través de la quema de productos fósiles, minería, fundiciones y combustión de residuos sólidos. Algunas formas de actividades humanas liberan mercurio directamente al suelo o al agua, por ejemplo la aplicación de fertilizantes en la agricultura y los vertidos de aguas residuales

industriales. Todo el mercurio que es liberado al ambiente eventualmente terminará en suelos o aguas superficiales (Ebinghaus *et al.*, 1999; Pirrone *et al.*, 2006)

Aguas superficiales ácidas pueden contener significantes cantidades de mercurio. Cuando los valores de pH están entre cinco y siete, las concentraciones de mercurio en el agua se incrementarán debido a la movilización del mercurio en el suelo. Los microorganismos pueden convertir el mercurio que ha alcanzado las aguas superficiales o suelos en metilmercurio, una substancia que daña al sistema nervioso y puede ser absorbida rápidamente por la mayoría de los organismos. Los peces son organismos que absorben gran cantidad de metilmercurio de agua superficial cada día. Como consecuencia, el metilmercurio puede bioacumularse en peces y en las cadenas alimenticias de las que forman parte. Los efectos del mercurio en los animales provocan daño en los riñones, trastornos en el estómago, daño en los intestinos, fallos en la reproducción y alteración del ADN (Joner y Leyval, 2003; Brodtkin *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008; Tsuchiya *et al.*, 2008).

4.3 Mercurio y salud humana.

El mercurio puede ingresar al organismo por la piel, por aire o a través de los alimentos. El metilmercurio es la forma que más fácil se absorbe a través del tracto gastrointestinal, por lo que la ingesta de alimentos contaminados lleva al rápido traspaso de Hg al torrente circulatorio, desde donde se distribuye a otras partes del cuerpo, especialmente al Sistema Nervioso Central (SNC). El mercurio atraviesa la barrera placentaria, la hematoencefálica en mujeres embarazadas y puede pasar al bebé recién nacido también a través de la leche materna. La exposición en el lactante puede causar disminución del coeficiente intelectual y retardo en el desarrollo psicomotor. Este elemento ha dejado huella en la historia de la humanidad, con casos muy conocidos como el de Minamata - Japón, el envenenamiento por mercurio orgánico en Iraq, o la exposición a metilmercurio en el Amazonas (Gochfeld, 2003; Karada, 2010; Sakamoto *et al.*, 2010).

La exposición a mercurio elemental (Hg^0), a la que están sometidos los mineros auríferos, odontólogos, personas con amalgamas dentales y trabajadores de plantas de producción de cloro, entre otros, puede generar déficit en el desarrollo neurológico y

de comportamiento, lo que puede incluir daños sutiles en la memoria visual, atención y velocidad en las respuestas visuales, auditivas y psicomotoras, pérdida reversible de la capacidad para distinguir colores, además de inflamaciones severas de la piel (Fujimura *et al.*, 2009). Por otra parte, el metilmercurio es acumulado tanto en el cerebelo como en la corteza cerebral donde es fuertemente enlazado a las proteínas a través de los grupos sulfhidrilos. Uno de los grandes problemas de este agente tóxico es su alta capacidad para atravesar la barrera placentaria en forma de un conjugado de mercurio-cisteína, a través del sistema de transporte activo para aminoácidos neutros (Karada, 2010; Sakamoto *et al.*, 2010).

4.4 Minería y mercurio.

En la minería aurífera en Colombia, las explotaciones y beneficio del mineral son realizadas con métodos artesanales sin planeamiento ambiental, usando de manera incorrecta e irracional el mercurio en la recuperación del oro. La extracción de oro con mercurio consiste de cuatro etapas principales: amalgamación, separación de la parte mineral de la amalgama, quema de la amalgama mercurio-oro y purificación del oro. La amalgamación consiste en mezclar manualmente la roca triturada enriquecida de oro con mercurio metálico, posteriormente se libera el exceso de mercurio, generalmente en cercanías a corrientes de agua. La amalgama producida es de alta densidad y puede ser separada del resto de sedimentos por precipitación; luego esta amalgama es sometida a altas temperaturas con lo que se puede separar el oro sólido del mercurio, siendo este último liberado al ambiente (como Hg^0) en forma de vapor (Hinton y Veiga, 2001).

En el desarrollo de los procesos anteriores, se genera el derramamiento directo de grandes cantidades de mercurio a suelos, ríos y en cuerpos de agua como ciénagas y lagunas. La volatilización del mercurio usualmente se realiza a campo abierto liberando este contaminante directamente a la atmósfera; además estos procesos son realizados muy cerca de las viviendas de los mineros, de tal forma que las familias respiran gran parte del vapor de mercurio e ingieren alimentos y agua con concentraciones perjudiciales para la salud (Olivero y Johnson, 2002).

4.5 Fitorremediación.

Las técnicas de remediación, pueden realizarse *in situ* o *ex situ*. La utilización de estas técnicas en ocasiones provoca alteraciones posteriores a la remediación que impiden recuperar el uso anterior del suelo. Estas técnicas se clasifican según Elwes (1999) en cuatro categorías: extracción, químicas, físicas y biológicas. Las técnicas biológicas se desarrollaron hace un par de décadas, sobre todo a escala piloto, aunque en los últimos años se realizan a escala comercial, tanto en el caso de suelos contaminados como en el caso de aguas o efluentes (USEPA, 1996 y 1997; Verma *et al.*, 2006). Para la aplicación de las técnicas biológicas se deben considerar las condiciones específicas del medio a descontaminar, evaluar las interacciones del suelo con el contaminante, de los microorganismos aplicados con los contaminantes y de los microorganismos aplicados con las poblaciones nativas del suelo (Telysheva *et al.*, 2002; Amir *et al.*, 2007). Una de las técnicas biológicas que más atención ha recibido es la fitorremediación ("fito" significa planta y el sufijo latino "remedium", que significa limpiar o restaurar) que tiene como objetivo degradar, asimilar, metabolizar o desintoxicar metales pesados, compuestos orgánicos y compuestos radioactivos, por medio de la acción combinada de plantas y microorganismos con capacidad fisiológica y bioquímica para absorber, retener, degradar o transformar sustancias contaminantes a formas menos tóxicas (Harvey *et al.*, 2002; Xiao *et al.*, 2010; Wei y Ma, 2010).

Las plantas tienen una habilidad notable para extraer y concentrar contaminantes a partir del aire a través de los estomas, y del agua y suelo por medio de su sistema radicular; también cuentan con mecanismos en su metabolismo para poder realizar transporte de metales. Se caracterizan, además por tener respuestas enzimáticas para frenar el estrés oxidativo provocado por el incremento en la concentración celular de metales tóxicos (Megateli *et al.*, 2009; Mohanty *et al.*, 2010). Por otro lado, dada la particularidad de que las plantas carecen de la habilidad de desplazarse, éstas han creado sistemas bioquímicos únicos para la adquisición de nutrientes, control y detoxificación en la rizosfera (Jagadeesan y Kavitha, 2006). También pueden estabilizar el suelo contaminado y crear las condiciones favorables para la colonización microbiana de la rizosfera, la degradación simbiótica y la desintoxicación de los contaminantes (Doty, 2008). Además de estas adaptaciones fisiológicas, el sistema de raíces de las plantas puede hacer infiltraciones en grandes

volúmenes de suelo (Xia, 2004). Como resultado de estas ventajas, surge el interés de usar a las plantas como medio para enfrentar la contaminación ambiental y recuperar sitios contaminados. Por tal razón, la fitorremediación se considera ahora una tecnología prometedora, de bajo costo y amigable con el ambiente, con la cual de manera integral, se podrán recuperar distintos sitios contaminados (Moreno *et al.*, 2008).

La aplicación de la fitorremediación tiene ciertas limitaciones como son la profundidad de penetración de las raíces; la fitotoxicidad en áreas fuertemente contaminadas; los tiempos de proceso pueden ser muy prolongados con respecto a las demás técnicas de remediación y la biodisponibilidad de los compuestos que siempre limita la captación (Cunningham *et al.*, 1997; López *et al.*, 2005). Además, esta técnica es aplicable para sitios con concentraciones bajas o moderadas; y tiene el riesgo de ingresar los contaminantes a la cadena trófica y de emitirlos al ambiente por la volatilización de éstos desde las hojas (Zheng *et al.*, 2008).

Otra limitante es el tiempo de remediación del sitio contaminado, que puede estar entre 1 a 20 años, por lo que se deben requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables. Sin embargo, en la actualidad se vienen empleando técnicas químicas y biotecnológicas que favorecen las tasas de bioacumulación de mercurio, al igual que especies con poca interacción con las cadenas tróficas (Macek *et al.*, 2000; Watanabe y Suzuki, 2002; Pulford y Watson, 2003).

4.5.1 Mecanismos y fases de la fitorremediación.

La desintoxicación de contaminantes por fitorremediación se realiza empleando al menos uno de los siguientes mecanismos: fitoextracción, rizofiltración, fitoestimulación, fitoestabilización, fitovolatilización y fitodegradación.

La estrategia de fitoextracción o fitoacumulación explota la capacidad de algunas plantas para acumular contaminantes en sus raíces, tallos o follaje, las cuales pueden ser fácilmente cosechadas. Este mecanismo ha sido ampliamente estudiado en plantas que acumulan metales (Jian *et al.*, 1997) como *Viola baoshanensis* (Zhuang

et al., 2005), *Thlaspi praecox* (Tolra *et al.*, 2006), *Thlaspi caerulescens* (Hernández *et al.*, 2006), *Stackhousia tryonii* (Bhatia *et al.*, 2005), *Phyllanthus orbicularis* y *Phyllanthus discolor* (Berazaín *et al.*, 2007), *Sedum alfredii* (Wu *et al.*, 2007) y recientemente con materiales radioactivos (Singh *et al.*, 2008). La rizofiltración se basa en la utilización de plantas crecidas en cultivos hidropónicos. Se prefieren raíces de plantas terrestres con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar contaminantes. Por ejemplo, Alkorta y colaboradores (2004) ensayaron *Pteris ferns* para rizofiltrar arsénico que se encuentra en aguas contaminadas.

En la fitoestimulación o rizodegradación las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos. Pivetz y colaboradores (1997) ensayaron con éxito el crecimiento de diferentes especies de plantas en presencia de pentaclorofenol e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Recientemente, Siciliano y colaboradores (2003) investigaron la capacidad de degradación y la composición de las comunidades microbianas durante la fitoestimulación en la raíz de *Festuca arundinacea* expuesta a hidrocarburos del petróleo. Encontraron que la máxima tasa de degradación fue de 38 mg de hidrocarburos/kg mes; este resultado es el doble de lo que se encontró en el testigo. También observaron la alternancia en la composición de las comunidades microbianas.

La fitoestabilización es un mecanismo que utiliza a la planta para desarrollar un sistema denso de raíces que le permite reducir la biodisponibilidad y la movilidad de los contaminantes evitando el transporte a capas subterráneas o a la atmósfera. Dec y Bollang (1994) demostraron que *Raphanus sp.* desarrolla su sistema radicular en un año y que, durante el mismo tiempo, absorbe compuestos fenólicos, removiendo hasta en un 90% la concentración inicial.

La fitodegradación consiste en la transformación de los contaminantes orgánicos en moléculas más simples. En determinadas ocasiones, los productos de la degradación le sirven a la planta para acelerar su crecimiento, en otros casos los contaminantes son biotransformados. Por ejemplo, Marjories *et al.*, (2001), Newman *et al.*, (1999) y Kassel *et al.*, (2002), encontraron que el álamo fitodegrada moléculas como el éter metil terbutílico y el tricloroetileno presentes en acuíferos.

La fitovolatilización se produce a medida que las plantas en crecimiento absorben agua junto con los contaminantes orgánicos solubles. Algunos de los metales pueden llegar hasta las hojas y volatilizarse a la atmósfera. Se ha estudiado la capacidad de la *Arabidopsis sp* en volatilizar Se, Pb y Hg al modificarla con genes de levaduras mutantes (Chaney *et al.*, 1997). Estudios han indicado que *Hydrilla verticillata* posee la capacidad de volatilizar el Se, que puede encontrarse en el suelo y el agua (Carvalho *et al.*, 2001). *Arundo donax* puede crecer en presencia de tazas de metales pesados como: Cu, Pb, Cd, Zn, Ni, Hg y Cr, los cuales tiene la capacidad de fitoextraer y volatilizar a la atmosfera (Han y Hu, 2005).

Estas biotransformaciones, que ocurren generalmente en la naturaleza se les denominan atenuación natural. Se ha observado que los niveles de contaminantes se reducen más rápidamente en suelos con plantas. Por ejemplo, April y Sims (1990) demostraron que la biodegradación de varios contaminantes se intensificó debido al crecimiento de pastos en los suelos contaminados con hidrocarburos. En otros estudios (Anderson y Coats, 1994), encontraron que la rizosfera contenía una población muy diversificada de microorganismos, dos o tres veces más abundantes que lo observado en los suelos cercanos sin hierbas.

Una planta fitorremediadora realiza cualquiera de los mecanismos anteriores siguiendo tres fases: Absorción, excreción y desintoxicación de contaminantes.

- La absorción de contaminantes se realiza a través de las raíces y las hojas mediante los estomas y la cutícula de la epidermis (Watt y Evans, 1999). Esta absorción ocurre en la rizodermis de las raíces jóvenes, que absorben los compuestos por ósmosis dependiendo de factores externos como la temperatura y el pH del suelo. Otros factores importantes que inciden en la penetración del contaminante son su peso molecular e hidrofobicidad que determinan que estas moléculas atraviesen las membranas celulares de la planta. Después de cruzar la membrana, los contaminantes son distribuidos a través de toda la planta (Harvey *et al.*, 2002).
- Los contaminantes que se absorben por las raíces, se excretan vía hojas a través de los estomas (fitovolatilización). Cuando las concentraciones de los contaminantes son

elevadas, sólo pequeñas fracciones (menos del 5 %) se excretan sin cambios en su estructura química.

- La desintoxicación de los compuestos orgánicos se lleva a cabo por la vía de la mineralización hasta dióxido de carbono.

Algunos ejemplos recientes son: la biodegradación del fenantreno por raíces de avena y por comunidades nativas del suelo (Miya y Firestone, 2001); la biodegradación del pireno por *Festuca arundinacea* y *Panicum virgatum* L., donde se utilizó carbono marcado para observar la transformación, la distribución y el destino final del contaminante.

4.5.2 Plantas que pueden ser utilizadas para la fitorremediación.

Podemos hablar de gramíneas y leguminosas. En el primer grupo encontramos a los zacates (que normalmente ya están en los suelos), también al pasto llanero y algunos de los pastos nativos. Las leguminosas que normalmente se ven como coberteras, pueden tener también esta propiedad, por ejemplo, el frijol, el terciopelo o la pica pica mansa. Normalmente todas las leguminosas tienen esta capacidad (Vásquez, 2002).

Lo interesante de estas plantas es que tienen la capacidad de extraer del suelo los contaminantes como si fueran nutrientes y acumularlos. Erróneamente, mucha gente ve plantas en el suelo que no son las que tradicionalmente nos sirven y las quitan, ignorando, que en su raíz hay una gran cantidad de raicillas que funcionan como extractoras. Además, las raíces de las plantas tienen un intercambio muy dinámico con los microorganismos del suelo para favorecer este factor de nutrición (Vásquez, 2002).

Realmente es una maravilla lo que pueden hacer las plantas a través de sus raíces. No sólo son capaces de absorber, por ejemplo, los hidrocarburos como nutrientes, sino que, además, liberan fotosintatos, producto de la fotosíntesis, y los carbohidratos y los azúcares son liberados como exudados por parte de la raíz. En la rizosfera, ambiente cercano a la raíz muy rico en nutrientes, crece una gran cantidad de organismos benéficos. Al establecer estas plantas en zonas afectadas por contaminación, favorecemos el desarrollo de estos microorganismos, que funcionan como agentes de

biorremediación. La planta por sí misma tiene la capacidad de extracción, pero la riqueza de nutrimentos que hay alrededor de la raíz permite que entren estos microorganismos y en conjunto sean los que desarrollen esta función tan importante (Vásquez, 2002).

Algunas plantas han sido identificadas que tienen el potencial de absorción de plomo. Muchas de estas plantas pertenecen a las siguientes familias: *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Scrophulariaceae*, *Asteraceae*, y *Lamiaceae*. La Mostaza parda (*Brassica juncea*), se ha encontrado que tiene una buena capacidad para el transporte de plomo de las raíces a los brotes, posee un coeficiente de fitoextracción de 1,7 y que a una concentración de plomo de 500 mg/L no es fitotóxico para esta especie (USEPA, 2000).

Existen algunas pruebas de que ciertas especies de plantas tienen la capacidad de extraer y acumular mercurio tanto de la atmósfera como del suelo. Un equipo de investigación encabezado por Richard Meagher en la Universidad de Georgia investigan el uso de los árboles de álamo amarillo (*Liriodendron tulipifera*), de crecimiento rápido y eficaz en la absorción y la liberación de vapor de mercurio a una velocidad de hasta 10 veces mayor que el común de las plantas (Meagher, 1998). También se encuentran reportes de una tasa de fitoextracción del 42 % en un híbrido de sauce (*Salix sp.*) cuando el suelo contaminado es tratado con agentes quelantes como el EDTA y el ácido cítrico (Phytoremediation at Argonne National Laboratory West, 2000).

4.5.3 Plantas hiperacumuladoras.

La mayoría de las plantas capaces de crecer en tierras ricas en metales lo hacen excluyendo iones potencialmente tóxicos de sus sistemas de raíces; en otras plantas, los metales son utilizados como micronutrientes, sin embargo concentraciones mínimas saturan a la planta. La habilidad de tolerar la presencia de metales pesados está determinada por el nivel de variación genética del individuo (Kamnev y Van der Lelie, 2000).

Las plantas adoptan distintas estrategias frente a la presencia de metales (Barceló y Poschenrieder, 2003). De acuerdo con la estrategia de bioacumulación de Baker (1981), las plantas hiperacumuladoras, pueden superar en 100 o más veces los valores normales de metales acumulados en sus tejidos (Salt, 2006).

La hiperacumulación implica la existencia de mecanismos internos de detoxificación de iones metálicos libres, para evitar daño oxidativo. Las fitoquelatinas (PC's) desempeñan un papel fundamental en la detoxificación, pues pasan el tóxico a las vacuolas, disminuyendo su contenido en el citosol (Pai y Rai, 2010). Otro mecanismo es depositarlo sobre la pared celular y hacer enlaces a grupos -SH en el límite del citoplasma (Navarro *et al.*, 2007).

La planta puede protegerse al formar complejos metálicos estables, menos tóxicos con quelantes y/o al secuestrar los metales desde el citoplasma hacia el interior de vacuolas o en la pared celular, donde no puedan ocasionar efectos adversos (Schat *et al.*, 2002; Vázquez *et al.*, 2009). La tolerancia viene determinada por la acción de varios mecanismos internos que actuarían conjuntamente.

Las gramíneas o poáceas (Poaceae Barnhart) son una familia de plantas herbáceas, o muy raramente leñosas, perteneciente al orden Poales de las monocotiledóneas (Liliopsida). Son el género más adecuado para la fitorremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas. Además se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio para la fitorremediación. A la fecha, se han identificado más de 400 especies de plantas entre terrestres y acuáticas, pertenecientes a 22 familias, de las cuales la familia *Brassicaceae* contiene 87 especies incluidas en 11 géneros tolerantes a los metales y capaces de crecer en concentraciones elevadas (Ghosh y Singh, 2005).

4.6 Fitotoxicidad.

El término fitotoxicidad se ha asociado normalmente con la bioacumulación de una sustancia dañina en el tejido de una planta en niveles que afectan su crecimiento y normal desarrollo. Sin embargo, esta definición muchas veces no es adecuada porque las plantas presentan distintos grados de fitotoxicidad mostrando una gran variedad de síntomas durante su ciclo de crecimiento, existiendo distintos niveles de daño. Además, el crecimiento no sólo se ve afectado por la bioacumulación de sustancias tóxicas, sino también por factores medioambientales como deficiencias nutricionales, estrés hídrico, daño en raíces u otros, los cuales producen disminución del rendimiento (Naidu *et al.*, 2003). Chang y colaboradores (1994), indican que para confirmar que existe fitotoxicidad por metales se requiere que:

- Las plantas sufran un daño.
- El metal potencialmente tóxico sea acumulado en el tejido de vegetal.
- Las anomalías observadas no correspondan a otros desórdenes del crecimiento de la planta.
- Se observen los mecanismos bioquímicos que causan la toxicidad del metal en las plantas durante el ciclo de crecimiento.

En general, las plantas son mucho más resistentes a los incrementos en la concentración que a una insuficiencia de un elemento esencial dado. Distinto es el caso de un elemento no esencial, donde el nivel de daño aumenta conforme aumenta la concentración del elemento. Se puede establecer que los metales más tóxicos para plantas superiores son Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd y posiblemente también Ag, Be y Sn (Kabata y Pendías, 2001). El Hg se puede presentar en los tejidos de las plantas en un rango de concentración de 30 a 700 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Hg (Kabata y Pendías, 2001; Pais y Jones, 1996)

4.6.1 Fitotoxicidad del mercurio.

El mercurio es considerado uno de los metales más tóxicos para las plantas. Se relaciona con la alteración de muchas reacciones fisiológicas y bioquímicas, como las de luz y oscuridad de la fotosíntesis, captación de nutrientes minerales, permeabilidad de la membrana plasmática, transpiración, y funciones normales de las enzimas, vitaminas y hormonas. Reduce el índice mitótico en el meristemo

apical de la raíz y aumenta la frecuencia de aberraciones cromosómicas, que son directamente proporcional a la concentración de Hg. También puede reemplazar metales esenciales en pigmentos y presentar gran afinidad por los grupos sulfhídrico (-SH), formando así puentes -S-Hg-S-, e interfiriendo con funciones en que participan proteínas no protegidas. En el peor de los casos, una gran concentración de Hg puede llevar a la precipitación total de proteínas (Patra *et al.*, 2004). Por otra parte, los iones de mercurio tienden a formar enlaces covalentes, pueden unirse al DNA e inducir cambios en las cromátidas hermanas en el núcleo celular (Bontideana *et al.*, 2004).

El efecto fitotóxico de los compuestos mercuriales ha sido reportado en algunas plantas como el trigo, el arroz y otros cereales donde se ha observado necrosis en la punta de las hojas, germinación anormal, disminución del porcentaje de germinación, y reducción de la longitud de tallos y raíces. Cabe destacar que los efectos fitotóxicos afectan también el suelo, dejándolo no apto para el desarrollo de las plantas y destruyendo su biodiversidad (Cavallini *et al.*, 2008).

4.7 Espectroscopia de Absorción Atómica por vapor frío.

El primer reporte usando vapor de mercurio, para monitorear el mercurio en aire fue en 1939 (Woodson, 1939). Más tarde Kimura y Miller (1962) utilizaron Sn (II) para producir vapor de mercurio. Hatch y Ott (1968) reportaron una de las primeras descripciones de la espectrometría de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS) para el análisis de mercurio en muestras ambientales. Desde entonces, numerosos reportes han sido descritos mejorando el método.

En la realización de este tipo de análisis, el mercurio se convierte en Hg^{2+} por tratamiento de las muestras con una mezcla oxidante de ácidos (nítrico, clorhídrico, sulfúrico), permanganato de potasio, seguido de reducción del Hg^{2+} a Hg^0 con cloruro estañoso o tetrahidrobórato de sodio. El mercurio se arrastra con una corriente de aire seco, argón o nitrógeno, y la determinación se lleva a cabo empleando un espectrómetro de absorción atómica con celda provista de ventanas de cuarzo y equipado con una lámpara de cátodo hueco de mercurio a una longitud de onda de 253.7 nm.

4.8 El cultivo de tejidos vegetales.

El término genérico “cultivo de tejidos vegetales” involucra a diferentes técnicas de cultivo de material vegetal diverso, incluyendo a los protoplastos (células desprovistas de su pared celular), células, tejidos, órganos y plantas completas. Mediante éstas y otras técnicas de cultivo, es posible obtener plantas libres de microbios en un medio nutritivo aséptico (estéril) en condiciones ambientales controladas. También se lo conoce como “cultivo *in vitro* de plantas” por realizarse en recipientes de vidrio (hay también de otros materiales). Hoy, esta técnica tiene numerosas aplicaciones, entre ellas estudiar diversos procesos fisiológicos y metabólicos en células, tejidos y plantas completas (George, 1993).

El punto de partida para el cultivo de tejidos es la iniciación. Este es el proceso por el cual se trae material vegetal *in vivo* en un medio de cultivo estéril. Las células y tejidos que crecerán y se desarrollarán desde este inicio dependerán de los objetivos del cultivo de tejidos. Estos tejidos *in vitro* están ahora dentro de un microcosmos estéril de un recipiente de vidrio o de plástico; y son protegidos del medio exterior no estéril (Krikorian, 1991).

Con el propósito de sostener el vigor de los tejidos vegetales y permitir que ellos crezcan, se multipliquen y desarrollen, esto es cultivar los tejidos, deben darse además ciertos requerimientos externos. Los tejidos pueden necesitar que se los apoye o sean colocados sobre o en el interior de la superficie de un gel acuoso solidificado con agar o pueden colocarse en un medio líquido. También necesitarán de un suministro de los elementos minerales nutritivos que son esenciales para el crecimiento vegetal, también posiblemente algunas vitaminas, azúcares como fuente de energía y un coctel de reguladores de crecimiento que controlan el crecimiento y desarrollo de estos tejidos y plantas particulares. Es conveniente preparar este medio ambiente nutricional incorporando estos compuestos químicos dentro del gel o líquido, ajustando el pH alrededor de 6 y esterilizando este medio de cultivo ya sea dentro del recipiente para cultivo o en uno separado (Murashige y Skoog, 1962; Lemon y Blaque, 1996).

Para el correcto crecimiento y desarrollo del tejido en cultivo, en general, es necesario el suministro de luz, pero a intensidades muy bajas, mucho más que la de la luz solar.

La bioacumulación en las plantas de la energía de los carbohidratos provendrá de los azúcares agregados al medio, más que de la fotosíntesis, de manera que son innecesarios unos altos niveles de luz. Una temperatura controlada también es necesaria para estabilizar el crecimiento y mejorar la predictibilidad del desarrollo de los tejidos (Pradhan *et al.*, 1998).

Debido a que en condiciones de cultivo *in vitro* las plantas son mantenidas libres de contaminación microbiana, estas técnicas son muy utilizadas para distinguir las respuestas y las capacidades metabólicas de las células vegetales sin la interferencia de los microorganismos que normalmente están presentes en la rizosfera de plantas o de tejidos (Chaudhry *et al.*, 2005; Lebeau *et al.*, 2008).

El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta poderosa en la investigación de sistemas y modelos aplicables en fitorremediación, se ha aplicado en numerosos estudios encaminados a identificar la capacidad de las células de las plantas a tolerar, asimilar, desintoxicar, metabolizar, almacenar y eliminar productos formados de amplia variedad de orgánicos y xenobióticos contaminantes eliminando los efectos de la actividad microbiana (Coniglio *et al.*, 2008; Podlipna *et al.*, 2008 y 2007; Rezek *et al.*, 2007; Laurent *et al.*, 2007; Bode *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2006).

Los estudios en cultivos *in vitro* tienen un mayor potencial para el estudio práctico de los procesos y mecanismos implicados en la fitorremediación debido a que crecen relativamente rápido y una vez establecidos, estos cultivos *in vitro* se puede propagar de forma indefinida, Así puede asegurarse la estabilidad genética en los tejidos usados y la disponibilidad siempre que se requieran, garantizando la reproducibilidad de los resultados. En contraste, las plantas *in vivo* o en sistemas hidropónicos tienen una vida útil limitada y cada planta necesita ser reemplazada y restablecida después de cada experimento. En consecuencia, el tiempo necesario para llevar a cabo los montajes experimentales se puede reducir sustancialmente usando plantas *in vitro* en lugar de las plantas *in vivo* (Wevar Oller *et al.*, 2005; Suresh *et al.*, 2005; Gujarathi y Linden, 2005; Gujarathi *et al.*, 2005; Mezzari *et al.*, 2004; Van Aken *et al.*, 2004; Doran, 2009).

Además de la conveniencia práctica de los cultivos de tejidos vegetales *in vitro*, también ofrecen ventajas técnicas importantes en comparación con las plantas *in vivo*, debido a que en los cultivos *in vitro* se mantienen libres de contaminación microbiana, y pueden ser utilizados para distinguir las respuestas y las capacidades metabólicas de las células vegetales de las de los microorganismos que normalmente están presentes en la rizosfera de plantas o de tejidos *in vivo* (Chaudhry *et al.*, 2005; Lebeau *et al.*, 2008).

Los estudios de cultivos *in vitro* de plantas pueden llevarse a cabo bajo condiciones que son más fáciles de controlar que en plantas *in vivo*, con respecto a la composición del medio, los niveles de reguladores de crecimiento, y la capacidad de manipularlos usando aditivos al medio. Se facilita el transporte de sustancias y la absorción por las células permitiendo la recuperación, el aislamiento de los productos intermedios y los metabolitos más fácilmente, requiriendo menos etapas de purificación y el rendimiento de las muestras es de mayor pureza en cantidades adecuadas para su análisis ya sea por espectrometría de masas, absorción atómica o resonancia magnética nuclear (RMN) (Lamoureux *et al.*, 1981; Mumma y Davidonis, 1983; Schmidt, 2001; Laurent *et al.*, 2007; Doran, 2009).

La maleabilidad de los cultivos de tejidos vegetales *in vitro* plantea la posibilidad que con una elección cuidadosa de las condiciones de cultivo, los resultados obtenidos reflejen el comportamiento y las propiedades de las plantas en condiciones *in vivo* (Mumma y Davidonis, 1983; Sterling y Balke, 1988; Brazier *et al.*, 2007). El papel clave del uso del cultivo de tejidos *in vitro* en la investigación en fitorremediación es un sistema modelo para establecer el potencial de bioacumulación, la comprensión de los mecanismos metabólicos y de la tolerancia que funcionan en las plantas *in vivo*.

Durante años, el metabolismo de muchos productos químicos xenobióticos se ha considerado más allá de la capacidad enzimática de los vegetales, la biotransformación de estos compuestos en los entornos de las plantas se atribuye exclusivamente a la acción de microorganismos asociados a sus raíces. Los

cultivos *in vitro* en condiciones axénicas han desempeñado un papel importante para disipar este error porque han demostrando que las células vegetales son capaces de metabolizar una amplia gama de xenobióticos de forma independiente (Fletcher *et al.*, 1987; Goel *et al.*, 1997, Hughes *et al.*, 1997; Komossa *et al.*, 1992; Scheel y Sandermann, 1977; Van Aken y Schnoor, 2002; Doran, 2009; Corrales *et al.*, 2009).

4.9 Caña flecha.

La caña flecha o caña brava pertenece a la familia de las *POACEAE*, comprende un gran número de especies, alrededor de 5.000, pertenecientes a más de 700 géneros. Se trata de plantas herbáceas, perennes o anuales, con tallo (hueco en los entrenudos y muy nudoso), en algunos casos lignificado. En algunas áreas tienden a dominar, llegando incluso a constituir bandas de vegetación muy extendidas que confieren una fisonomía propia al territorio (prado, estepa, sabana) (Kalliola *et al.*, 1992).

Las Poaceas (gramíneas), aparte de constituirse en el soporte de la alimentación ganadera, también lo son para la alimentación humana, ya que ofrece granos y cereales de consumo masivo como: arroz, maíz, trigo, cebada, caña de azúcar, sorgo, entre otros.

La caña flecha presenta la siguiente ubicación taxonómica:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta (Angiosperma)
Clase:	Liliopsida (Monocotiledónea)
Subclase:	Liliidae
Orden:	Poales
Familia:	POACEAE
Subfamilia:	Panicoideae
Tribu:	Gynerieae
Género:	Gynerium
Especie:	sagittatum
Nombres comunes:	Caña Flecha, Palma, caña brava, flecha.

Gynerium sagittatum (aubl) beauv se encuentra ampliamente distribuida en la América tropical desde el sur de México, Florida, las Antillas hasta Bolivia y

Paraguay (Francis, 2003). En Colombia es posible encontrar cultivos en Sonsón, en las isletas del río Arma, en la hoya del río Samaná, en los llanos de San Martín, Caloto (Valle del Cauca), en las riveras de los ríos Cauca, Nechí, en las riveras de las quebradas cerca a Medellín y parte del Urabá Antioqueño (González, 1997). En la zona indígena de los departamentos de Córdoba y Sucre se mantienen los cultivos como lotes silvestres en los márgenes del río Sinú, San Jorge y en pequeños lotes dentro del Resguardo de San Andrés de Sotavento - Córdoba (Ballesteros y Guardo, 1988).

4.9.1 Características morfológicas.

Las partes aéreas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* están conformados por el culmo y las hojas. El culmo o tallo aéreo es una caña de crecimiento alargado, con nudos y entrenudos bien diferenciados con una longitud total entre 3 - 8 metros y 2 a 4 cm de diámetro. Su color es verde amarillento a pardo. Tiene un tallo subterráneo llamado rizoma (Anexo 1), que también puede crecer por encima de la superficie del suelo, presentando una coloración similar al tallo aéreo, siendo la de éste más oscura, con nudos y entrenudos bien diferenciados, formándose en cada nudo raíces adventicias fibrosas, dándole origen a una yema, la cual origina una nueva planta y posteriormente una macolla (Madera y Tuirán, 1982).

Las hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* son lanceoladas, nacen en los nudos de los tallos, de manera opuesta y una en cada nudo. Está compuesta por las siguientes partes: vaina, lígula, lámina y aurículas (Anexo 1).

- La vaina nace en la parte superior del nudo; es una estructura cilíndrica que abraza el entrenudo.
- La lígula está formada por láminas membranosas representadas por una corona de pelos, ubicadas en la parte superior interna de la vaina.
- Las aurículas, estructuras finas de forma triangular, angostas, con el ápice oscuro.

- La lámina que es la parte visible de la hoja, posee una nervadura central principal y secundarias paralelas, puede ser pubescente o glabra. El limbo alcanza de 1 a 2 metros de longitud aproximadamente y su parte más ancha alcanza unos 8 cm, con bordes ligeramente aserrados y ásperas al tacto. El color es verde pálido y su ángulo de inserción con el tallo es de 30 grados aproximadamente (Madera y Tuirán, 1982).

Las flores, se encuentran agrupadas en una inflorescencia botrítica compuesta de forma reticulada, denominada panícula que puede alcanzar hasta dos metros de longitud. Son unisexuales, las masculinas con dos estambres y las femeninas con dos estilos, y estigma pubescente. El fruto de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* es un cariósido, cubierto por la pared del pericarpio. El embrión está embebido en el endospermo. El cotiledón recibe el nombre de escutelo (Madera y Tuirán, 1982).

Las primeras raíces se denominan embrionarias viven poco tiempo, después son sustituidas por la raíz permanente, la cual carece de nudos y escamas. Posteriormente, se desarrollan las raíces adventicias o secundarias, caracterizadas por un gran número de raíces fibrosas ramificadas y densas, que ofrecen un gran soporte a la planta y le facilitan su nutrición. Estas últimas raíces se caracterizan por presentar nudos y escamas. La longitud de estas raíces puede alcanzar 35 cm y un grosor de 2 a 3 mm (Madera y Tuirán, 1982).

5. METODOLOGÍA.

5.1 Material vegetal. Las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* c.v “criolla”, fueron establecidas en condiciones de cultivo *in vitro* utilizando el medio básico de Murashige y Skoog (1962) (Anexo 2) suplementado con: tiamina-HCl 1 mg.L⁻¹; mio-inositol 100 mg.L⁻¹ piridoxina-HCl 0.5 mg.L⁻¹; nicotinamida 0.5 mg.L⁻¹; glicina 2 mg.L⁻¹; sacarosa 2500 mg.L⁻¹; agar 4.5 g.L⁻¹; 1 mg.L⁻¹ de 6-bencilaminopurina (BAP) y se ajustó el pH en un rango de 5.7-5.8, temperatura promedio de 25±3 °C, con una intensidad lumínica de 50 ± 5 μMol m⁻²s⁻¹ durante 12 horas/luz y humedad relativa del 45 al 60 %. Posteriormente, los frascos sembrados fueron sellados e incubados por 30

días. Este estudio fue realizado en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre (9°18' N, 75°23' O).

5.2 Montaje de las pruebas con el mercurio.

Se realizó la preparación de los diferentes ensayos propuestos partiendo de una solución patrón de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ a una concentración de 500 mg.L^{-1} a partir de la cual se realizaron las diluciones pertinentes para obtener una concentración final según la Tabla 1, en un volumen de 250 ml por tratamiento en el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962). Para cada experimento se utilizó un diseño completamente al azar, realizando un procedimiento de muestreo aleatorio simple.

Tabla 1. Tratamientos evaluados en la determinación del potencial acumulador de mercurio total por parte de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv.*

	Concentración ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Tratamientos
Control	0	T0
Hg	5	T1
	10	T2
	15	T3
	25	T4
	75	T5

5.3 Muestreo y análisis de las plantas.

Una vez las plantas tuvieron un sistema radicular, se transfirieron a los frascos a razón de una planta por frasco, el cual contenía 15 mL de medio de cultivo líquido. Se realizó la evaluación de los tratamientos a los 20, 40 y 60 días. Para el análisis, se tomaron las raíces y los tallos con sus hojas y fueron digeridos con una solución de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (3:1, v/v). Los análisis de mercurio se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Electron S4, provisto de una celda con ventanas de cuarzo, por el método de espectroscopia de absorción atómica con vapor frío adaptado de Sadiq y colaboradores (1991) y USEPA (1994), previamente validado en el laboratorio Aguas de la Universidad de Córdoba (ANEXO 3-5). Los análisis fueron realizados por duplicado y los resultados se reportaron en mg Hg kg^{-1} peso húmedo.

5.4 Control de calidad del método.

El análisis de muestras ambientales como material biológico, implica la determinación de pequeñas concentraciones de mercurio ($\mu\text{g g}^{-1}$ ó ng g^{-1}). La obtención de estos datos analíticos requiere el cumplimiento de ciertas condiciones para garantizar una alta confiabilidad de los resultados (Miller y Miller, 2002). Los criterios de control de calidad que debe poseer un procedimiento analítico son: linealidad, exactitud, precisión y límite de detección, entre las más usuales. A continuación analizaremos cada uno de ellos.

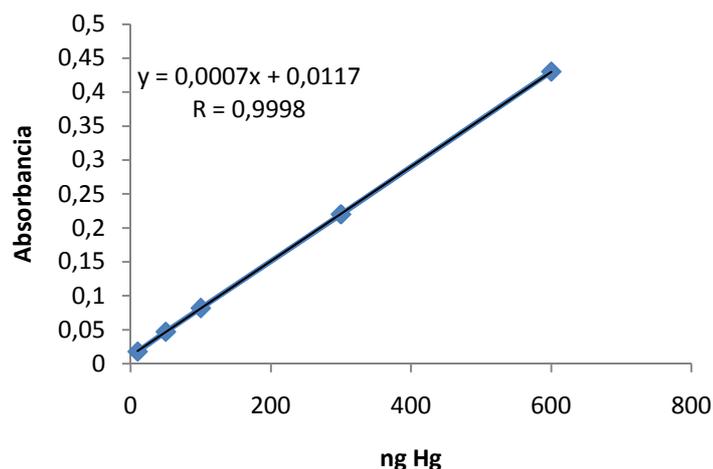
5.4.1 Linealidad.

Este parámetro permite establecer la proporcionalidad entre la concentración de analito y la señal registrada por el instrumento de medición (absorción atómica en el caso de HgT). Para determinar la cantidad de mercurio en una muestra se construye una curva de calibración, que consiste en preparar una serie de diluciones de un estándar en un intervalo de concentraciones específicas donde los datos guardan linealidad. Para estimar la mejor relación entre la señal medida y la concentración del analito, sobre una serie de estándares, es aplicado el procedimiento matemático conocido como regresión lineal. La ecuación obtenida en la regresión lineal es de la forma:

$$Y = aX + b$$

Donde Y es la señal del detector (absorbancia) y X es la cantidad o concentración del analito. La constante a es el intercepto sobre el eje y y b la pendiente de la recta. Para estimar qué tan bien los puntos experimentales son ajustados a una línea recta es calculado el coeficiente de correlación, R, el cual toma valores en el intervalo -1 y 1, aceptándose sólo aquellos donde el valor de R es mayor de 0.995.

La Gráfica 1 muestra la curva de calibración instrumental obtenida en la determinación por triplicado de 5 soluciones patrones de mercurio no digeridos, para la determinación del contaminante en matrices ambientales, mostrando el intervalo lineal y el coeficiente de correlación obtenido.



Gráfica 1. Curva de calibración para las determinaciones de HgT en matrices ambientales por espectroscopía de absorción atómica usando el método de vapor frío.

La curva de calibración fue verificada periódicamente con los patrones, para establecer posibles desviaciones de la misma durante los procesos de medición.

5.4.2 Exactitud.

Este indicador de calidad evalúa la capacidad del método analítico de dar resultados lo más próximo posible al valor verdadero. Se determinó con el análisis de muestras de material certificado de referencia la Dorm-2 (para peces) del National Research Council of Canadá (NRCC). La Tabla 2 muestra los resultados de las determinaciones de HgT para los materiales certificados de referencia, lo cual evidencia la exactitud de los métodos utilizados.

Tabla 2. Determinaciones de HgT para los materiales certificados de referencia.

Material Certificado	DORM – 2
Matriz	Pez
Valor Certificado (μgg^{-1})	4.64 ± 0.26
Valor Encontrado (μgg^{-1}) (n= 6)	4.50 ± 0.07
CV (%)	1.60
% Recuperación	96.98

5.4.3 Precisión.

Este criterio evalúa la dispersión de las medidas alrededor de la media, la cual corresponde al grado de concordancia entre los valores de una serie de ensayos repetidos sobre una misma muestra homogénea. Este parámetro es calculado empleando el coeficiente de variación (CV), a partir de la ecuación:

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

Donde S es la desviación estándar y \bar{X} el promedio obtenido para las mediciones. Para análisis de muestras complejas, éste parámetro se tolera hasta un valor del 20%.

La Tabla 2 también muestra los coeficientes de variación de las determinaciones de Hg en material certificado, lo que indica la precisión de los métodos utilizados.

5.4.4 Límite de detección (LD).

Este parámetro es definido como tres veces la desviación estándar del blanco. Este valor se obtuvo a partir de los valores determinados para 10 soluciones con todos los reactivos empleados en el proceso de digestión y análisis del mismo (excepto el Hg) y corridos como muestras. Concentraciones de analito por debajo de este nivel no pueden ser detectados cuantitativamente, ya que son confundidas con la señal del ruido del instrumento. Este valor fue calculado mediante la ecuación: $LD = 3S_b/B$ donde S_b es la desviación estándar de los blancos y B la pendiente de la curva de calibración (Long y Winefordner, 1983). El LD para los correspondientes métodos fue determinado multiplicando el LD encontrado por el aforo y dividido por el peso o volumen de muestra.

El valor obtenido del LD a partir de los 10 blancos de reactivos fue de 0.14 ng mL^{-1} . La Tabla 3 muestra los LD del método (LDM) para la matriz de interés.

Tabla 3. Límites de detección del método (LDM) para la matriz de interés.

Matriz	Aforo (mL)	Volumen ó Peso de muestra	LDM
Agua	50	50 mL	0.14 ng mL^{-1}
Sedimentos	50	0.5 g	14 ng g^{-1}

5.5 Fitotoxicidad.

La Fitotoxicidad se valoró mediante la cuantificación del desarrollo de las plantas expresadas en características morfológicas como el porcentaje de hojas y tallos cloróticos y el porcentaje de plantas necróticas, contrastando con la concentración de mercurio adicionada al medio de cultivo (Kabata y Pendías, 2001).

5.6 Manejo y análisis de datos.

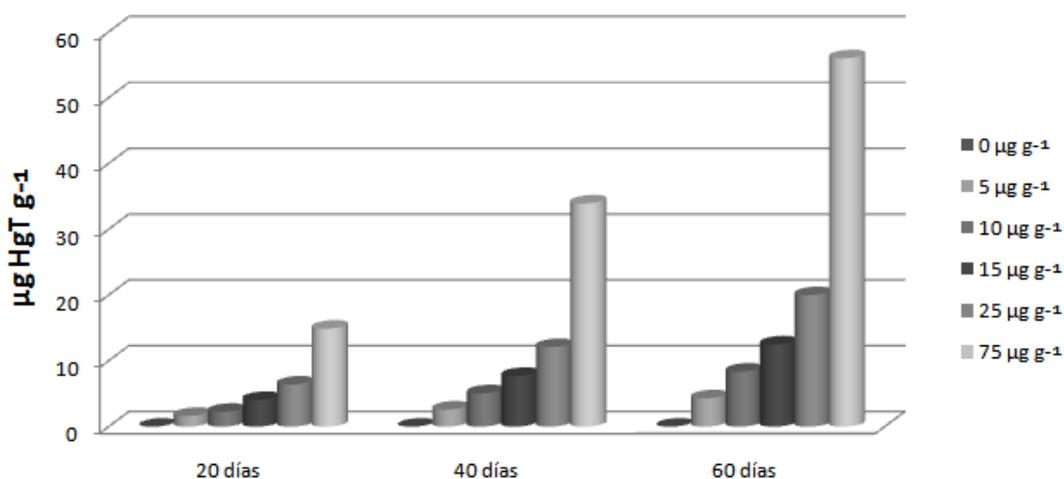
El resultado del análisis de mercurio total (HgT) para cada muestra de raíz y tallo-hojas y el efecto fitotóxico en las plantas es presentado como la media (\bar{X}) +/- error estándar (SEM) de las determinaciones por cada cinco repeticiones de cada tratamiento. Para examinar la presencia de diferencias entre más de dos medias fue utilizado el Análisis de Varianza (ANOVA), el cual asume que los datos siguen una distribución normal y que las varianzas de las poblaciones son iguales. Por consiguiente, antes de realizar este análisis fue indispensable aplicar el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y el test de homogeneidad de varianza de Bartlett. De otra parte, para evaluar la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones medias de mercurio de las exposiciones a soluciones de diferentes concentraciones (grupos de datos) fue empleado una prueba de Tukey por medio del paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI. Para todos los análisis estadísticos el criterio de significancia fue establecido a $P < 0.05$ (Walpole y Myers, 1992).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 Bioacumulación de mercurio en los tejidos de *Gynerium sagittatum* (aubl) beauv.

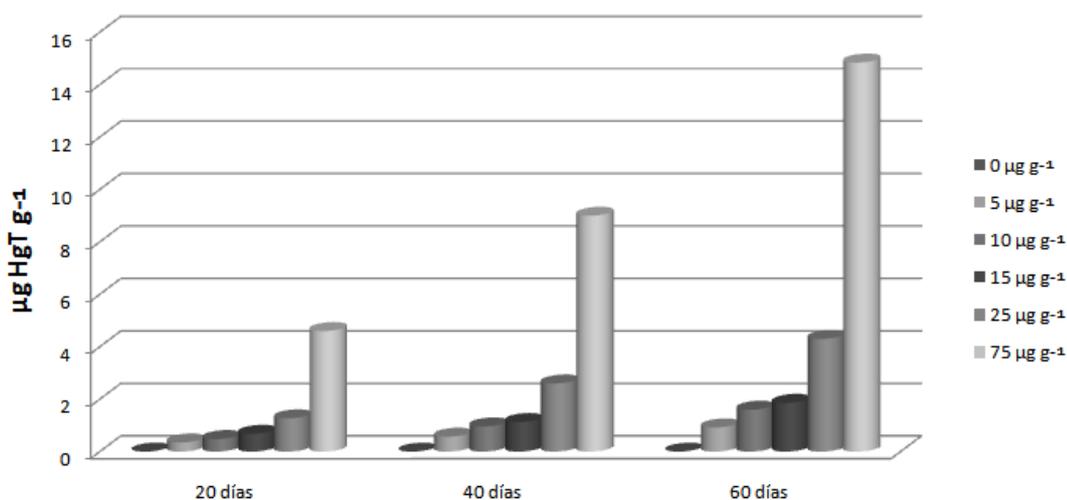
Al analizar las plantas en las diferentes concentraciones de mercurio suministradas al medio de cultivo, se obtuvieron los siguientes resultados de Hg total (HgT) en las raíces (Gráfica 2) y tallos-hojas (Gráfica 3), evaluadas a los 20, 40 y 60 días (Anexo 6 y 7).

Concentración de HgT en raíces



Gráfica 2. Concentración de HgT en raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Concentración de HgT en tallos-hojas

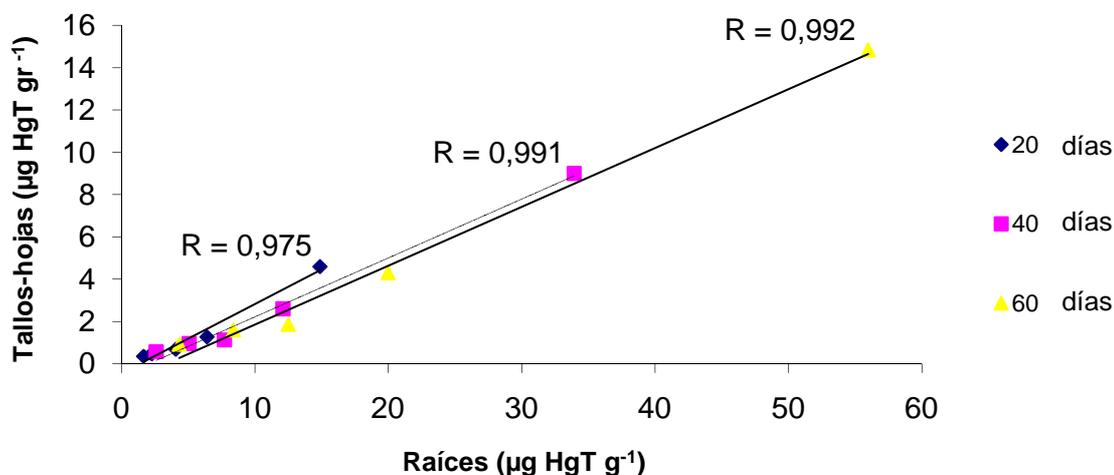


Gráfica 3. Concentración de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

De los valores de ambas gráficas se deduce que la parte de la planta de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* que más concentración de HgT tiene es la raíz, debido a que está en íntimo contacto con la solución que contiene el mercurio.

Al correlacionar la concentración de HgT en las raíces con la obtenida en tallos-hojas, ésta presenta altos valores de R, indicando una relación directa entre dichas concentraciones como se muestra en la Gráfica 4.

Correlación entre raíces y tallos-hojas



Gráfica 4. Correlación entre la concentración de HgT en las raíces y los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Este comportamiento podría explicarse ya que las raíces están expuestas directamente al mercurio presente en el medio de cultivo, y sobre ellas se adhiere una gran cantidad de Hg en las paredes celulares para así evitar efectos tóxicos en las partes superiores de la planta, en especial el desarrollo de necrosis y clorosis en hojas. Este proceso, posiblemente, se realiza a través de la secreción de fitosideróforos tales como las fitoquelatinas, a las cuales se une fácilmente el mercurio por su contenido de aminoácidos azufrados como cisteína, haciéndolo no disponible para su translocación al tallo (Cobbett, 2000; Meagher y Heaton, 2005; Sobrino *et al.*, 2009).

La concentración en los tallos-hojas se debe a que las hojas son el receptor final del metal en la planta, donde cambia su estado de oxidación de Hg^{2+} a Hg^0 , es fitoquelado y acumulado en las vacuolas como mecanismo de resistencia tóxica (Moreno *et al.*, 2005; Válega *et al.*, 2009). Por otra parte, el tallo transporta el Hg a las hojas, además, la misma retención ocasionada por las raíces limita el transporte del Hg hacia estos tejidos y por ende la concentración de Hg que se pueda encontrar en los tallos es menor (Yap *et al.*, 2007; Válega *et al.*, 2009).

De acuerdo con el análisis de varianza ($P < 0.05$) la concentración media del HgT resultó ser diferente entre las concentraciones en el estudio para cada tiempo de

evaluación y también cada una de las concentraciones en los tres tiempos evaluados. Por su parte, la prueba de Tukey ($P < 0.05$) arrojó diferencias significativas entre los tratamientos en cada tiempo de exposición y cada concentración en los tres tiempos evaluados, indicando que el tiempo de exposición favorece el aumento de la concentración del Hg en las raíces y en los tallos-hojas, en especial por la retención continua de Hg en la epidermis de las raíces (Anexo 8, 9, 10, 11, 12 y 13), hasta llegar a $55,98 \mu\text{g g}^{-1}$, seguida de los tallos-hojas con $14,84 \mu\text{g g}^{-1}$. Comparándola con *Pteris longuifolia* que presentan bioacumulación promedio de HgT en raíz de $26,22 \mu\text{g g}^{-1}$ de mercurio y *Adiantum sp.* con $17,91 \mu\text{g g}^{-1}$ en tallos determinadas en un estudio de Mina Santa Cruz, municipio Barranco de Loba, departamento de Bolívar (Pérez, 2010), *Gynerium sagittatum (aubl) beauv.* presenta una alta bioacumulación de HgT en sus tejidos.

6.2 Efecto de la concentración en la bioacumulación de HgT en los tejidos de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv.*

Al analizar el efecto de la concentración entre los tratamientos en cada una de las combinaciones y para cada tiempo de bioacumulación en los resultados obtenidos en las raíces, de acuerdo con el análisis de varianza ($P < 0.05$) la concentración media del HgT resultó ser diferente entre los tratamientos y al realizar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) a los resultados obtenidos en los 20, 40 y 60 días arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1} - 5 \mu\text{g g}^{-1}$, $0 \mu\text{g g}^{-1} - 10 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1} - 10 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1} - 15 \mu\text{g g}^{-1}$, $10 \mu\text{g g}^{-1} - 15 \mu\text{g g}^{-1}$ y $15 \mu\text{g g}^{-1} - 25 \mu\text{g g}^{-1}$ donde no hay una diferencia significativa. También se destaca la mínima desviación que presentaron los resultados, excepto los del tratamiento de $75 \mu\text{g g}^{-1}$, lo que nos asegura la estandarización de las condiciones de evaluación (Anexo 8, 9 y 10).

De acuerdo con el análisis de varianza ($P < 0.05$) la concentración media del HgT resultó ser diferente entre los tratamientos en cada una de las combinaciones y para cada tiempo de bioacumulación en los resultados obtenidos en los tallos-hojas, y al realizar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) a los resultados obtenidos en los 20, 40 y 60 días no arrojo diferencias significativas entre los tratamientos, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1} - 75 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1} - 75 \mu\text{g g}^{-1}$,

10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$, 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$ y 25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$ donde hay una diferencia significativa, confirmando que en los tallos-hojas se realiza una bioacumulación y depende de la translocación desde las raíces, cuando las plantas están sometidas a mayores concentraciones. También se destaca la mínima desviación que presentaron los resultados (Anexo 11, 12 y 13).

6.3 Cinética de bioacumulación de HgT en *Gynerium sagittatum* (aubl) beauv.

La cinética de bioacumulación de HgT en raíces indica que en 60 días de exposición al Hg hay diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con el análisis de varianza ($P < 0.05$), la concentración media del HgT en las raíces resultó ser diferente entre los tratamientos. Al realizar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) a los resultados obtenidos, arrojó diferencias significativas respecto a la concentración de HgT en los 20 y 40 días (Anexo 8, 9 y 10), demostrando que el tiempo de exposición favorece el aumento de la concentración del HgT en las raíces hasta los 60 días de evaluación, en especial por la retención continua de HgT en su epidermis; llegando, los niveles de HgT a los 60 días de evaluación a 22.050 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Anexo 19).

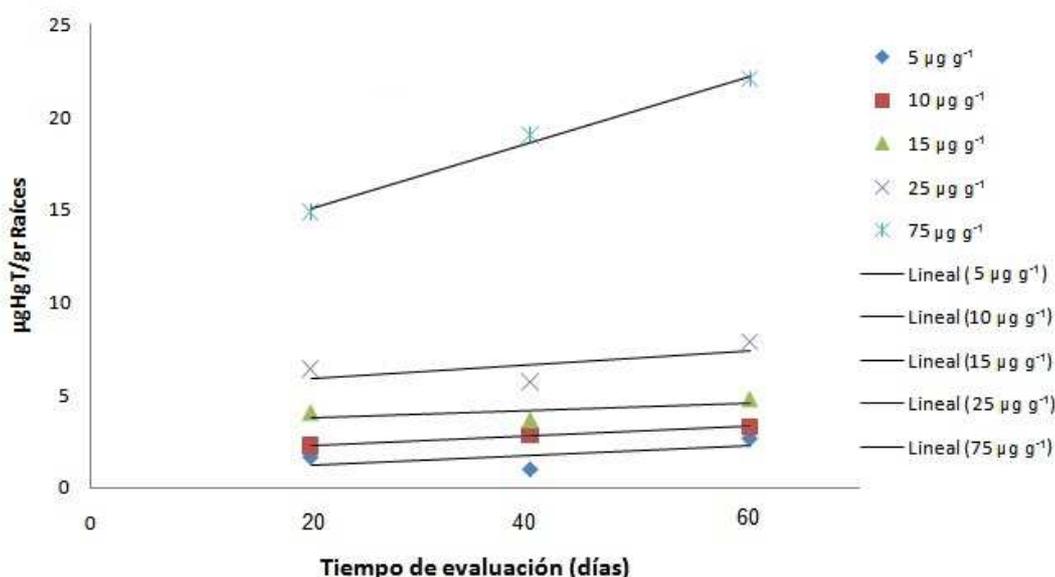
Para estimar la mejor relación entre la concentración de HgT en las plantas (raíces, tallos-hojas) y el tiempo de exposición al Hg, se aplica el procedimiento matemático conocido como regresión lineal. La ecuación obtenida en la regresión lineal es de la forma:

$$Y = aX + b$$

Donde Y es la concentración de HgT en las plantas (raíces, tallos-hojas) y X es el tiempo de exposición al Hg. La constante a es la pendiente de la recta y b el intercepto sobre el eje Y. Para estimar qué tan bien los puntos experimentales son ajustados a una línea recta es calculado el coeficiente de correlación, R. A continuación, en las Tablas 4 y 5 se muestran las ecuaciones matemáticas y los coeficientes de correlación obtenidos al aplicar la regresión lineal a los datos derivados de la cinética de bioacumulación de HgT. La Gráfica 5 presenta la

cinética de bioacumulación de HgT en las raíces y la Gráfica 6 presenta la cinética de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas.

Cinética de bioacumulación en las raíces



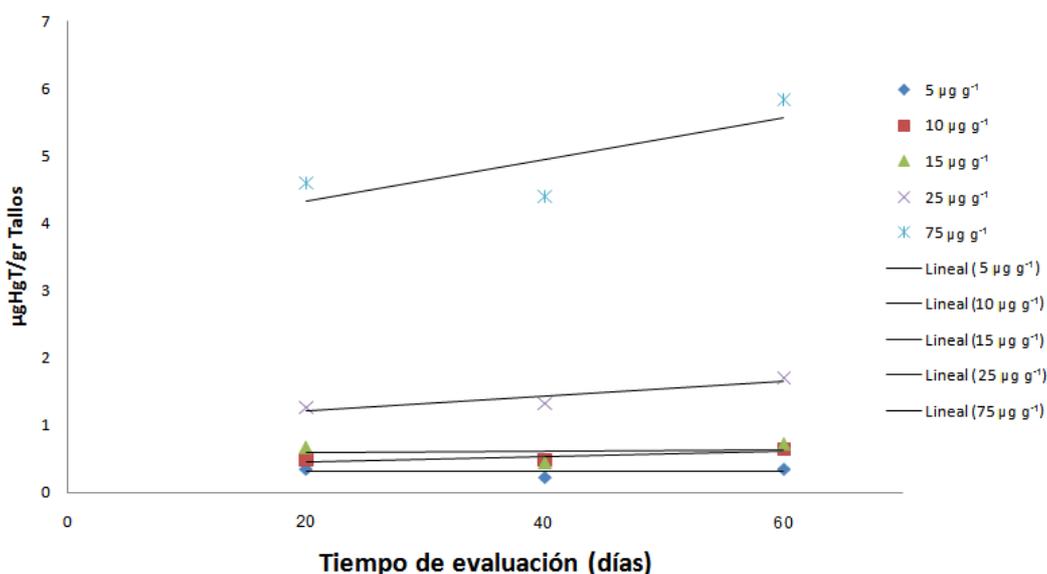
Gráfica 5. Cinética de bioacumulación de HgT en las raíces de *Gyneryum sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Tabla 4. Ecuación matemática y coeficiente de correlación obtenidos al aplicar la regresión lineal a los datos derivados de la cinética de bioacumulación de HgT en las raíces de *Gyneryum sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Concentración (µg g ⁻¹)	Ecuación Matemática	Coficiente de Correlación (R)
5	$y=0,52x+0,72$	0,3603
10	$y=0,515x+1,7567$	0,9985
15	$y=0,365x+3,4367$	0,3996
25	$y=0,74x+5,18$	0,442
75	$y=3,58x+11,5$	0,9916

El comportamiento de la cinética de bioacumulación en las raíces es mayor que en los tallos-hojas para cada uno de los tratamientos evaluados en los diferentes tiempos, llegando en las raíces a 22,05 µg g⁻¹ HgT en las raíces y 5,83 µg g⁻¹ HgT en los tallos-hojas al ser expuestos a 75 µg g⁻¹ Hg en 60 días de evaluación (Anexo 24).

Cinética de bioacumulación en los tallos-hojas



Gráfica 6. Cinética de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Tabla 5. Ecuación matemática y coeficiente de correlación obtenidos al aplicar la regresión lineal a los datos derivados de la cinética de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

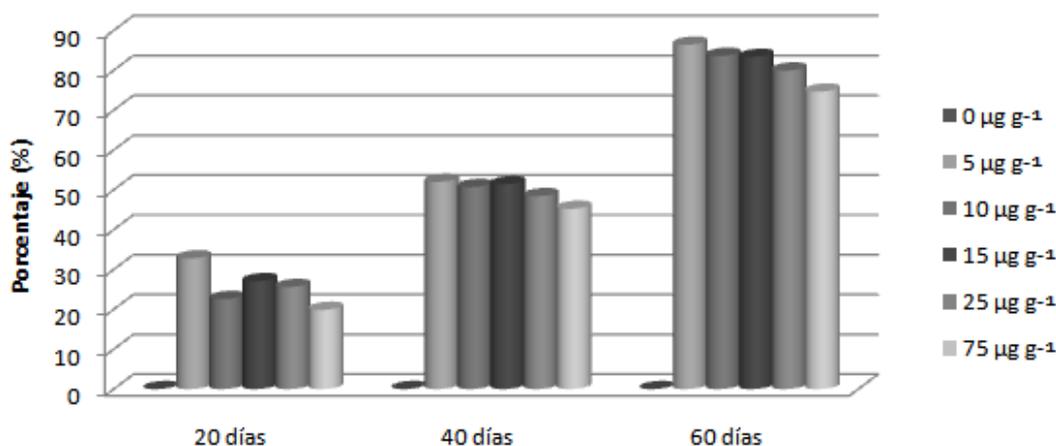
Concentración (µg g ⁻¹)	Ecuación Matemática	Coefficiente de Correlación (R)
5	$y=1E-16x+0,3067$	4E-30
10	$y=0,08x+0,3733$	0,75
15	$y=0,025x+0,57$	0,028
25	$y=0,215x+1,0033$	0,8523
75	$y=0,62x+3,7076$	0,6317

6.4 Capacidad bioacumuladora de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*.

La alta disponibilidad de mercurio en los medios de cultivo y el tiempo transcurrido en cada tratamiento tienen un efecto significativo sobre la concentración de Hg total en tejidos de forma directa. Estudios de laboratorio han demostrado que las plantas acumulan más mercurio cuando se introduce en forma orgánica que en forma inorgánica (Godbold, 1991; Godbold y Hüttermann, 1988; Ribeyre y Boudou, 1994; Mukherjee *et al.*, 2004; Feroci *et al.*, 2005). Justificándose los altos porcentajes de bioacumulación en los diferentes tratamientos al transcurrir los 60 días de evaluación llegando así a un 86.6 % (para 5 µg g⁻¹) hasta un 74.6% (para 75 µg g⁻¹) como se demuestra para las raíces (Gráfica 7) y con un

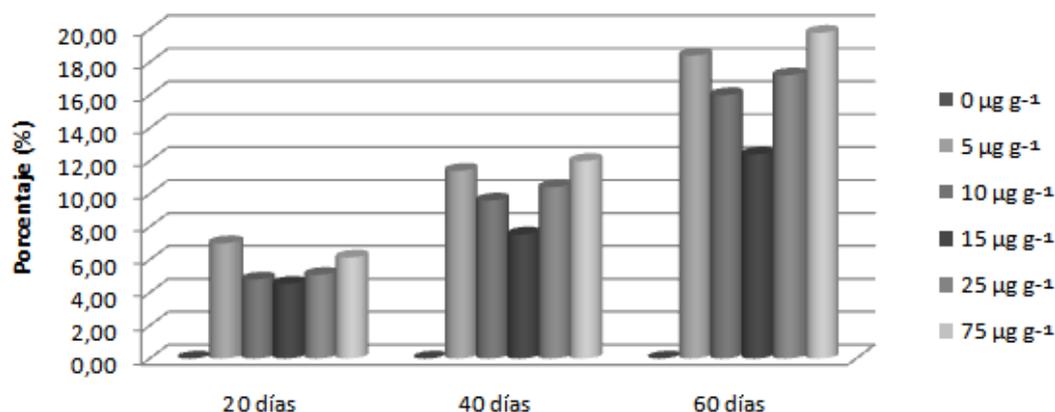
comportamiento inverso de un 18.4% (para $5 \mu\text{g g}^{-1}$) hasta 19.8% (para $75 \mu\text{g g}^{-1}$) en las tallos-hojas (Gráfica 8). Para cada caso se consideró la concentración adicionada al medio como el 100% (Anexo 25).

Capacidad de bioacumulación en las raíces



Gráfica 7. Capacidad bioacumuladora de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Capacidad de bioacumulación en los tallos-hojas



Gráfica 8. Capacidad bioacumuladora de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

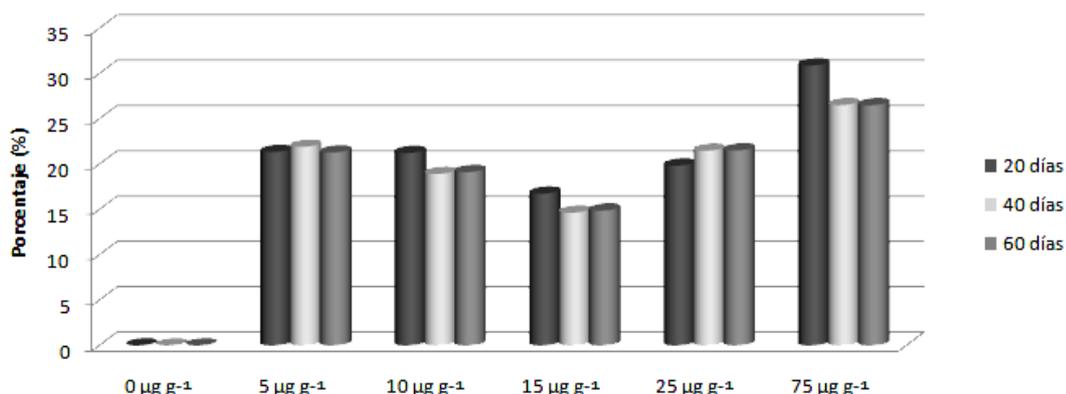
Las plantas poseen sólidas vías metabólicas para la biotransformación de una amplia gama de compuestos xenobióticos. La desintoxicación de estos productos en las plantas se realiza a través de una vía metabólica en un máximo de tres fases (Sandermann, 1992; Byrns, 2001; Forster *et al.*, 2006). Durante la primera fase, el xenobiótico es químicamente transformado por oxidación, reducción, o mediante la hidrólisis de enzimas como la monooxigenasas P450,

peroxidasas, reductasas, deshidrogenasas, y esterasas (Bode *et al.*, 2006; Wevar Oller *et al.*, 2005).

Los productos de las reacciones de la primera fase por lo general mantienen un cierto nivel de toxicidad. La desintoxicación se produce en gran medida durante la segunda fase, donde los metabolitos se conjugan por transferasas a los residuos de azúcar, glutatión o aminoácidos, resultando en la formación de complejos estables (Brazier *et al.*, 2007).

En la tercera fase, se realiza la exportación de los derivados conjugados desde el citosol por el sistema ATP, transportadores de membrana o de la exocitosis, la compartimentación y la inmovilización de los compuestos en las vacuolas o el apoplasto. Según este esquema general, el metabolismo de los tóxicos en la planta son el resultados de la formación de uniones estables, los productos conjugados se almacenan en los tejidos de la planta (Yamamura *et al.*, 2003; Vollenweider *et al.*, 2011).

Translocación de HgT desde las raíces a los tallos-hojas



Gráfica 9. Translocación de HgT desde las raíces hasta los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum* (aubl) beauv. expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

La mayor parte del mercurio acumulado está atrapado en las raíces y sólo una pequeña cantidad puede ser translocada a los tallos-hojas (Gráfica 9). La captación principalmente se realiza en la punta de la raíz, antes de la formación de la banda de Caspary (Agrasar y Sánchez, 1989; Kalliola *et al.*, 1992; Giraldo, 2005), la cual constituye una barrera que impide al metal pasar por apoplasto, forzándola a través del citoplasma que es selectivamente permeable (simplasto)

(Matilainen *et al.*, 2001; Wang, 2004). La banda de Caspary, es una capa de suberina impermeable que se extiende sin sucesión de continuidad a lo largo de las paredes radiales y transversales, constituye una barrera eficaz contra el movimiento pasivo de metales pesados en la estela, incidiendo de este modo la bioacumulación de metal (MacFarlane y Burchett, 2000; Lux *et al.*, 2004; Wang, 2004; Alassimone *et al.*, 2010). La endodermis divide el apoplasto de la raíz en dos compartimentos, lo que resulta muy conveniente para el desplazamiento selectivo de iones, minerales y agua. Los iones presentes en la solución pueden difundir libremente en todo el córtex, pero no pueden atravesar la banda de Caspary. Para entrar al cilindro vascular, es decir a la corriente transpiratoria, deben cruzar la membrana plasmática de una célula endodérmica, y así la planta controla qué iones pasan y qué iones son excluidos (Pulford y Watson, 2003; Wang, 2004; Alassimone *et al.*, 2010) (Gráfico 10).

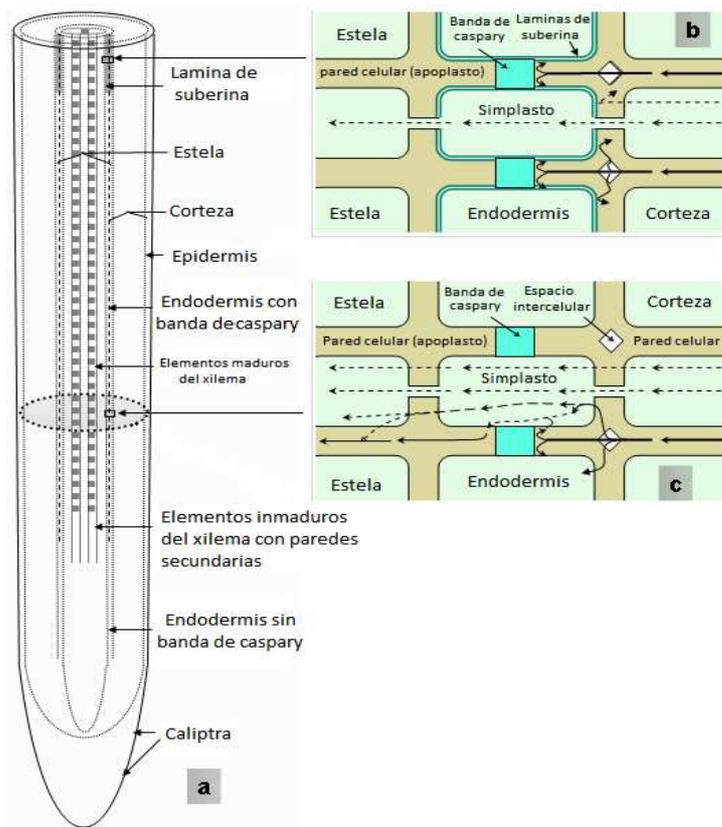
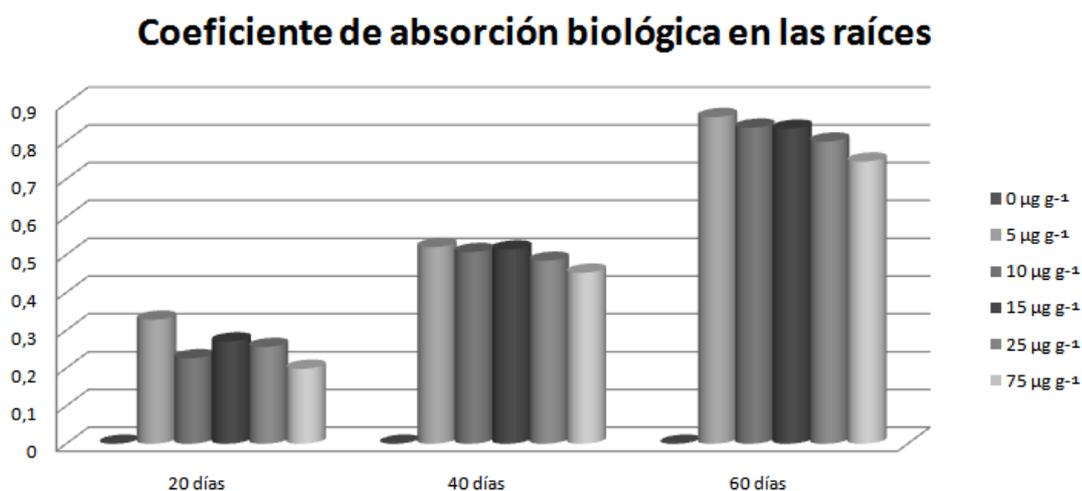


Gráfico 10. Ilustración de la banda de caspary en la punta de la raíz de *Gyneryum sagittatum (aubl) beaouv.* a) Diagrama de la sección longitudinal de una punta de la raíz. b) los solutos penetran a las células de la epidermis de la raíz por transporte activo o por difusión facilitada, luego de atravesar las membranas celulares, ya en el simplasma de la raíz, el agua y los solutos se desplazan de una a otra célula a través de los plasmodesmos. c) Otra parte del agua y algunos de los solutos que entran a la raíz se mueven a través de las paredes celulares y a lo largo de sus superficies. Sin embargo, para atravesar la banda de Caspary, el agua y los solutos tienen que ser transportados a través de las membranas celulares (Adaptado de Wang, 2004).

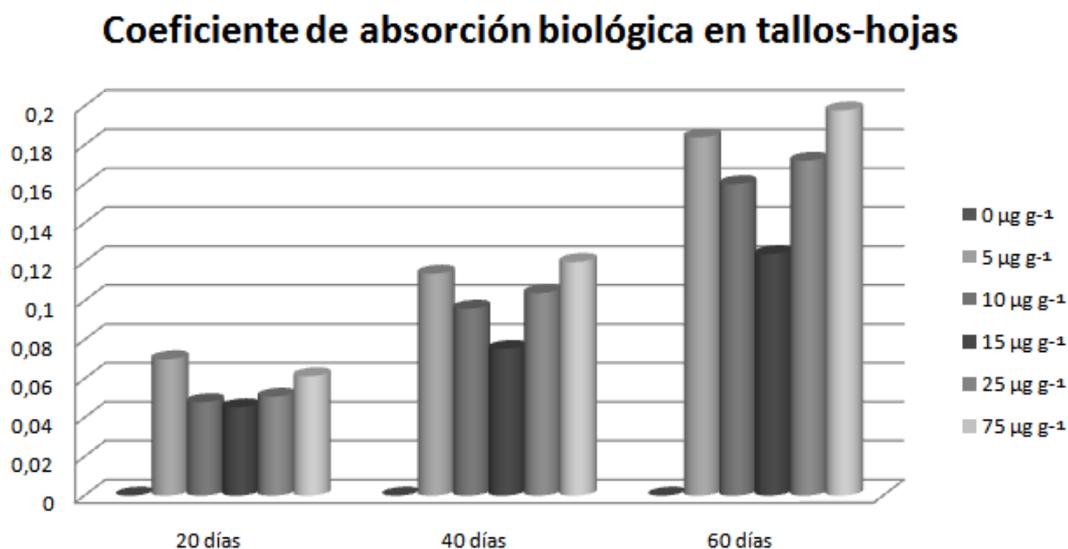
A pesar que la degradación de los xenobióticos no es completa, las plantas que crecen en sitios contaminados puede ser cosechadas y la biomasa, bien se incineran o se procesa de forma segura para una fitorremediación eficaz (Schröder *et al.*, 2009; Chong *et al.*, 2010).

6.5 Coeficiente de absorción biológica de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv.*

Este coeficiente se representa por la razón entre la concentración del elemento en la planta y la concentración suministrada al medio de cultivo (Edwards *et al.*, 1998). La Gráfica 11 muestra el coeficiente de absorción biológica en las raíces y la Gráfica 12 el coeficiente de absorción biológica en los tallos-hojas.



Gráfica 11. Coeficiente de absorción biológica de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.



Gráfica 12. Coeficiente de absorción biológica de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

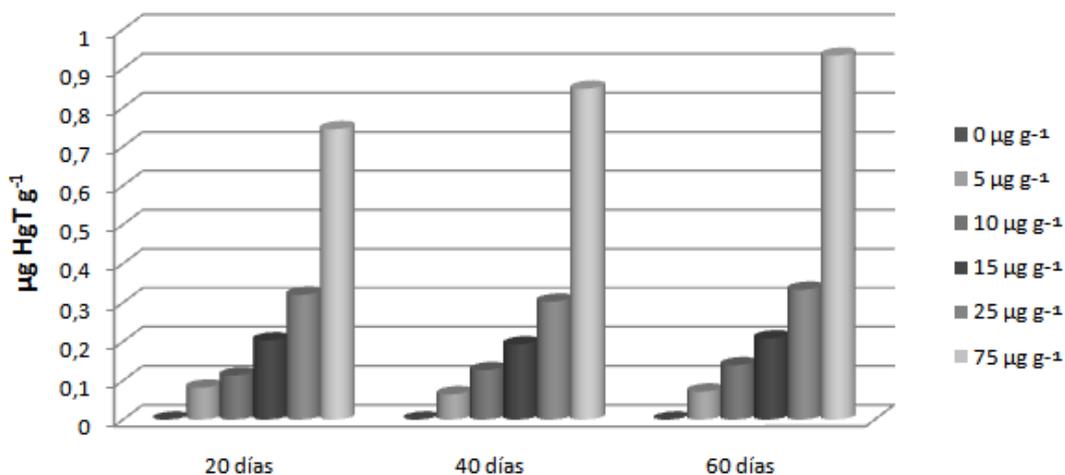
Los resultados obtenidos muestran que *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* presenta un coeficiente de absorción biológica de 0,75 para las raíces y de 0,2 en los tallos-hojas, indicando la bioacumulación de HgT en las raíces y la poca

translocación a los tallos-hojas, cuando estuvo bajo una concentración de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ de Hg durante 60 días. Este coeficiente va aumentando en las raíces al disminuir la concentración de mercurio hasta llegar a 0,86 en una concentración de $5 \mu\text{g g}^{-1}$, indicando que en bajas concentraciones de Hg la bioacumulación se realiza más eficientemente.

6.6 Coeficiente de bioacumulación de HgT en *Gynerium sagittatum* (aubl) beauv.

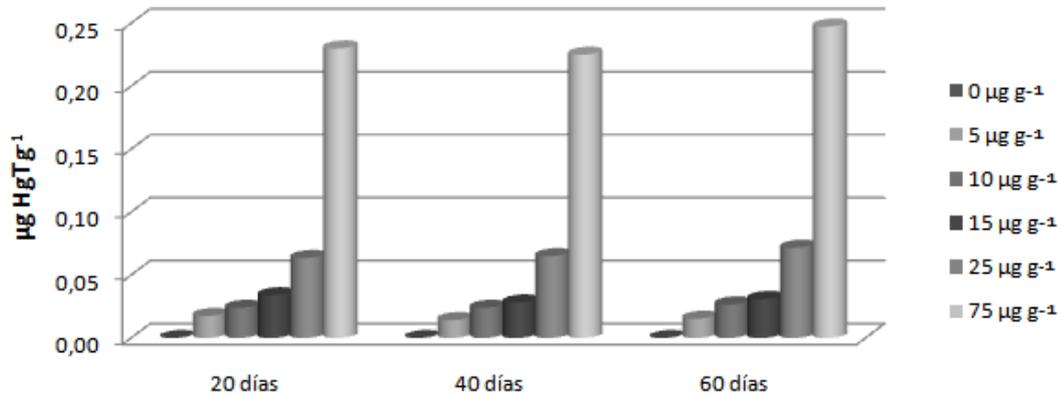
Este coeficiente se representa por la razón entre la concentración del elemento en la planta y el número de días que estuvieron expuestas las plantas a las soluciones con las diferentes concentraciones de Hg (Méndez y Raina, 2008). La Gráfica 13 muestra el coeficiente de bioacumulación en las raíces y la Gráfica 14 el coeficiente de bioacumulación en los tallos-hojas.

Coeficiente de bioacumulación en las raíces



Gráfica 13. Coeficiente de bioacumulación de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum* (aubl) beauv expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

Coeficiente de bioacumulación en los tallos-hojas



Gráfica 14. Coeficiente de bioacumulación de HgT en los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

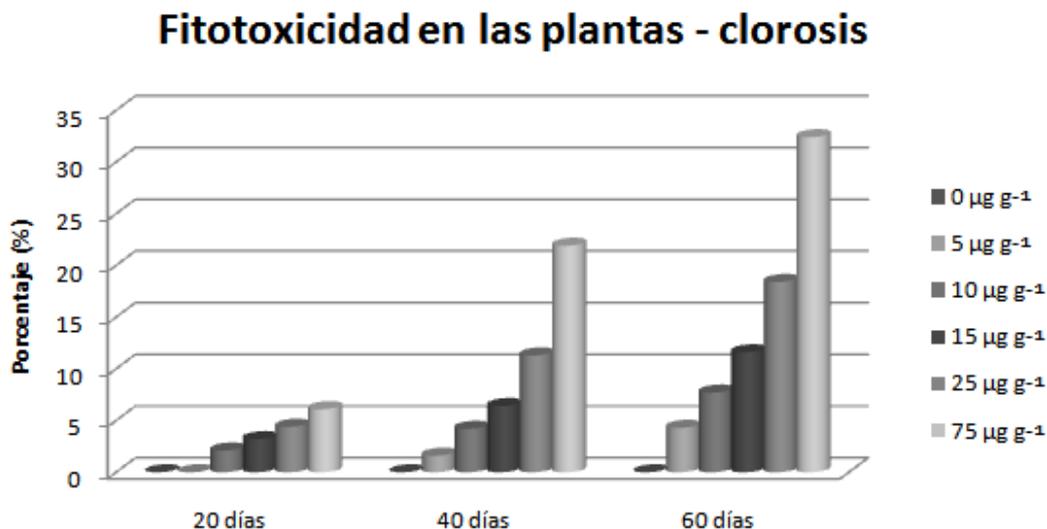
Los resultados muestran que *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* presenta un coeficiente de bioacumulación de HgT de 0,93 para las raíces y 0,29 en tallos-hojas en 60 días de evaluación y al exponerla a una concentración de 75 µg g⁻¹ Hg. Méndez y Raina (2008) reportan que si el valor del coeficiente de bioacumulación es mayor a 1, la especie puede ser considerada como fitoextractora, mientras que si dichos valores son menores a 1, la especie puede ser fitoestabilizadora. De acuerdo a este criterio, *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* puede considerarse una especie fitoestabilizadora de Hg.

6.7 Fitotoxicidad del Hg en las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*.

La sensibilidad de las especies vegetales a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y familias, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes. Las diferentes respuestas de las plantas vasculares a metales pesados pueden ser atribuidas a factores genéticos y fisiológicos (Calow, 1993; Navarro et al., 2007; Ci et al., 2009).

Los efectos de requerimientos nutricionales y tóxicos de los metales se estudian en condiciones controladas con el fin de diferenciarlos de aquellos que pueden ser producto de interacciones con microorganismos que están presentes en condiciones *in vivo* (Ross, 1994; Liu et al., 2009).

Todos los procesos fisiológicos y bioquímicos en las plantas pueden ser afectados negativamente por el Hg, cuando las plantas están expuestas a suelos, el agua o el aire contaminados con Hg (Patra y Sharma, 2000).



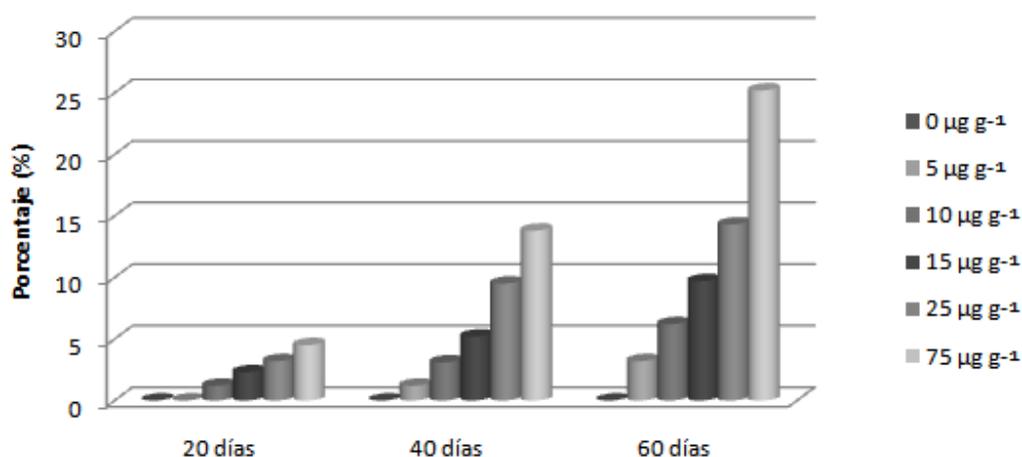
Gráfica 15. Fitotoxicidad expresada en porcentajes de clorosis en las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

De acuerdo a los resultados mostrados en la Gráfica 15 (Anexo 28), se observa una marcada clorosis que se expresa directamente proporcional al aumento de la concentración del Hg. El análisis de varianza ($P < 0.05$) mostró que la media de la clorosis en las plantas resultó ser diferente entre los tratamientos en cada una de las combinaciones y para cada tiempo de bioacumulación (Anexo 36 al 40). Al realizar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) a los resultados obtenidos en los 20 días, no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1}$ - $25 \mu\text{g g}^{-1}$, $0 \mu\text{g g}^{-1}$ - $75 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1}$ - $25 \mu\text{g g}^{-1}$ y $10 \mu\text{g g}^{-1}$ - $75 \mu\text{g g}^{-1}$, donde hay una diferencia significativa; al transcurrir 40 y 60 días las diferencias significativas entre los tratamientos aumentaron, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1}$ - $5 \mu\text{g g}^{-1}$, $0 \mu\text{g g}^{-1}$ - $10 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1}$ - $10 \mu\text{g g}^{-1}$, $10 \mu\text{g g}^{-1}$ - $15 \mu\text{g g}^{-1}$ y $15 \mu\text{g g}^{-1}$ - $25 \mu\text{g g}^{-1}$. En los tratamientos donde la concentración de Hg es más alta ($75 \mu\text{g g}^{-1}$), se obtuvo el mayor porcentaje de plantas cloróticas, llegando a 32.5% del total de plantas evaluadas en los 60 días. (Anexo 30 al 32).

En las plantas, los efectos de los metales empiezan en la raíz, ya que éste es el órgano responsable de asimilar los nutrientes del medio, y afectan sucesivamente el resto de la planta. En las hojas se producen graves daños en los cloroplastos y las mitocondrias, lo que altera los procesos de fotosíntesis y de respiración. En una fase más avanzada de alteración se producen intensos cambios metabólicos y de regulación celular, y ocurre finalmente el estímulo de la senescencia por bioacumulación crónica del metal pesado, lo que puede resultar en la muerte de la planta (Göthberg *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2010).

En este estudio, se presentó la muerte prematura de las células, tejidos, órganos y plantas completas, directamente proporcional a la concentración de Hg que fueron sometidas a menor concentración menor porcentaje de muerte (3.4% hasta llegar a 25.2% en $75 \mu\text{g g}^{-1}$) del total de las plantas evaluadas. El análisis de varianza ($P < 0.05$) mostró que la media de la necrosis en las plantas resultó ser diferente entre los tratamientos en cada una de las combinaciones y para cada tiempo de evaluación (Anexo 41 al 45) y al realizar la prueba de Tukey ($P < 0.05$) a los resultados obtenidos en los 20 días no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1} - 75 \mu\text{g g}^{-1}$ y $5 \mu\text{g g}^{-1} - 75 \mu\text{g g}^{-1}$ al transcurrir 40 días las diferencias significativas aumentaron para cada tratamiento y a los 60 días mostró diferencias significativas entre los tratamientos, exceptuando las siguientes comparaciones: $0 \mu\text{g g}^{-1} - 5 \mu\text{g g}^{-1}$, $5 \mu\text{g g}^{-1} - 10 \mu\text{g g}^{-1}$, $10 \mu\text{g g}^{-1} - 15 \mu\text{g g}^{-1}$ y $15 \mu\text{g g}^{-1} - 25 \mu\text{g g}^{-1}$ (Anexo 33 al 35). En las plantas se evidencia la muerte descendente de las hojas desde el ápice hasta la base de las hojas (Anexo 46).

Fitotoxicidad en las plantas - necrosis



Gráfica 16. Fitotoxicidad expresada en porcentajes de necrosis en las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20, 40 y 60 días.

De acuerdo a los resultados en la Grafica 16 (Anexo 24), se observa una marcada necrosis directamente proporcional al aumento de la concentración del metal. En los tratamientos donde la concentración de Hg es más alta ($75 \mu\text{g g}^{-1}$) se obtuvo el mayor porcentaje de plantas necróticas llegando a 25.2% del total de plantas evaluadas en los 60 días. Varios autores reportan que las concentraciones promedio de HgT en suelos están en el rango de 0,02 a $30 \mu\text{g g}^{-1}$ donde las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* podrían tener una mortalidad por debajo del 15% lo que la colocaría en un rango bajo (Carrasquero y Adams, 2003; Terzano *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2011). En este rango de concentraciones también son reportados suelos de Mina Santa Cruz, municipio Barranco de Loba, departamento de Bolívar, donde se explota la minería del oro (Vidal *et al.*, 2010).

El estado electroquímico y la especiación química de elementos contaminantes pueden contribuir a su movilidad desde las raíces a los brotes. En el caso del mercurio, se consideran las especies más móviles: el mercurio elemental y el ión mercurio II. La mayoría del mercurio Hg (II) que es capturado permanece ligado a los tejidos de la raíz, mientras que el mercurio Hg(0) capturado por las raíces y por las hojas es reducido a Hg(II) y permanece ligado a los tejidos (Moreno *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2008). Una vez el tóxico ha sido transportado a las partes superiores de la planta, éste se concentra y se almacena; este paso requiere de la

transformación a especies más o menos reactivas que favorezcan esta bioacumulación. Las plantas en general son capaces de secuestrar los iones tóxicos en complejos en el citoplasma para defenderse de su fitotoxicidad. El control de estas dos variables maximiza el almacenamiento de los elementos en las hojas, tallos, y los tejidos vasculares, así el mercurio es transportado como Hg(0) a las partes superiores de las plantas, donde los niveles de peroxidasa y catalasa oxidan el Hg(0) a Hg(II). El Hg (II) es altamente reactivo y forma productos particularmente estables con tioles reducidos; los cuales pueden almacenarse en las plantas en grandes cantidades (Meagher y Heaton, 2005; Lomonte *et al.*, 2010).

Los posibles mecanismos causales de la toxicidad del mercurio son los cambios en la permeabilidad de la membrana celular, reacciones del ión sulfhidrilo (-SH) con cationes, la afinidad para reaccionar con grupos fosfato y grupos de ADP o ATP, y la sustitución de los iones esenciales, principalmente grandes cationes, la absorción de nutrientes minerales y transpiración (Barber *et al.*, 1973; Kabata y Pendias, 1984; Godbold y Hütterman, 1988; Godbold, 1991; Patra y Sharma, 2000; Ortega *et al.*, 2007).

Los reservorios físicos como vacuolas subcelulares, células epidermales y elementos vasculares muertos han mostrado su capacidad para almacenar grandes cantidades de algunos tóxicos en las partes superiores de las plantas nativas hiperacumuladoras. Plantas específicas ya pueden reconocer el glutatión conjugado de Hg(II) y los bombea a las vacuolas (Moreno *et al.*, 2005; Clemens, 2006).

Para hacer frente al estrés oxidativo y disminuir la concentración celular de metales tóxicos, las plantas tienen la capacidad de secuestrar iones tóxicos en complejos dentro del citoplasma y así evitar su interacción en rutas metabólicas. Las principales formas de hacer frente a estos mecanismos son las fitoquelatinas (PC's) y metalotioneínas (MTs). Las fitoquelatinas (PC's) juegan un papel fundamental en la detoxificación de metales tóxicos en las plantas y los hongos, debido a que forman complejos con los metales y son translocados a través del tonoplasto y secuestrados en las vacuolas, disminuyendo así el contenido de

metales tóxicos en el citosol (Cobbett, 2000; McGrath y Zhao, 2003; Zhang *et al.*, 2010).

Las fitoquelatinas son sintetizadas a partir del complejo glutatión por la enzima PC sintasa, su estructura primaria generalmente consiste en $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ ($n=2-11$) y tienen la capacidad de formar complejos con metales como Cd, Cu, Zn, Ag y Hg. La fuerza de unión del Hg (II) a los complejos glutatión y fitoquelatinas, ocurre de la siguiente manera: $(\gamma\text{-Glu-Cys})\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_2\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_3\text{-Gly} < (\gamma\text{-Glu-Cys})_4\text{-Gly}$. Otros mecanismos que tienen las plantas hiperacumuladoras para evadir la acción tóxica del mercurio es depositarlo sobre la pared celular, y hacer enlaces a grupos -SH en el límite del citoplasma (Wang y Greger, 2004; Zhang *et al.*, 2010).

7. CONCLUSIONES.

Gynerium sagittatum (aubl) beauv es una especie con potencial para fitoestabilizar Hg en sus tejidos, siendo la raíz con $55,98 \mu\text{g g}^{-1}$ HgT la parte de la planta que presenta mayor concentración, seguida de los tallos-hojas con $14,84 \mu\text{g g}^{-1}$ HgT en 60 días, que son valores significativos al compararlos con *Pteris longuifolia* que presentan bioacumulación promedio de HgT en raíz de $26,22 \mu\text{g g}^{-1}$ y *Adiantum sp* con $17,91 \mu\text{g g}^{-1}$ en tallos determinadas en un estudio de Mina Santa Cruz, municipio Barranco de Loba, departamento de Bolívar.

Se estableció que las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* presentaron un 32,5% de clorosis y 25,2% de necrosis cuando fueron sometidas a una concentración de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ HgT durante 60 días, presentándose una sobrevivencia de 74,8%, lo que indica tolerancia a esta concentración de Hg.

La cinética de bioacumulación de HgT por *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*, en las raíces es de $20,05 \mu\text{g g}^{-1}$ HgT y en tallos-hojas es de $5,83 \mu\text{g g}^{-1}$ HgT en 20 días de evaluación, estableciendo las ecuaciones matemáticas para la modelación de los datos en cada condición de estudio. También presenta un coeficiente de absorción biológica de 0,75 para las raíces y de 0,2 en los tallos-

hojas, indicando la bioacumulación en las raíces y poca translocación a los tallos-hojas.

La capacidad de bioacumulación de HgT en las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* está relacionada con la concentración que se presente en el medio de cultivo y la capacidad de bioacumulación en los tallos-hojas está relacionada con la capacidad de translocación del Hg a través de las raíces.

En el presente estudio, se pudo establecer que *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* presenta un coeficiente de bioacumulación de 0,93 para las raíces y 0,29 en tallos-hojas; y una capacidad de remoción de HgT en el medio de cultivo, estuvo entre 74,6 % y 86,4% en las raíces y entre 12,4% y 19,8% para los tallos-hojas en 60 días de evaluación, indicando que esta especie tiene capacidad para ser empleada en fitorremediación.

Los estudios de cultivos *in vitro* de plantas pueden llevarse a cabo bajo condiciones que son más fáciles de controlar que en plantas *in vivo*. El papel clave del uso del cultivo de tejidos *in vitro* en la investigación en fitorremediación es un sistema modelo para establecer el potencial de bioacumulación, la comprensión de los mecanismos metabólicos y de la tolerancia que funcionan en las plantas *in vivo*.

8. RECOMENDACIONES.

Se deben realizar estudios con la utilización de otros metales pesados, para seguir estableciendo el potencial que tiene *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* en fitorremediación.

Se debe realizar ensayos en condiciones *in vivo* para comprobar el potencial de bioacumulación de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*, en la medida de lo posible con suelos contaminados con mercurio, provenientes de zonas mineras de explotación aurífera y estudios plantando *Gynerium sagittatum (aubl) beauv in situ* en dichas zonas donde se presenta la problemática ambiental.

9. BIBLIOGRAFIA.

- AGRASAR, Z., SÁNCHEZ E. (1989). Estudios sobre el género *Digitaria*. I. Anatomía de *Digitaria phaeothrix* y especies afines. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **(26):107-118.**
- ALASSIMONE, J., NASEER, S., GELDNER, N. (2010). Developmental framework for endodermal differentiation and polarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107 (11): 5214-9.**
- ALKORTA, I., BECERRIL, J., GARBISU, C. (2010). Phytostabilization of metal contaminated soils. *Rev. Environ. Health.* **25(2):135-46.**
- ALKORTA, J., HERNÁNDEZ, L., ALLICA, C., GARBISU, N. (2004). Plants against the global epidemic of arsenic poisoning. *Environ. Int.* **30(7):949-951.**
- AMIR, H., TERRIER, N., RIGAULT, F., JAFFRE, T. (2007). Relationships between Ni-hyperaccumulation and mycorrhizal status of different endemic plant species from New Caledonian ultramafic soils. *Plant. Soil.* **(293):23-35.**
- ANDERSON, T., COATS, J. (1994). Bioremediation through rhizosphere technology. ACS Symposium Series. Am. Chem. Soc. Washington D.C. **(563):204-215.**
- ANDREWS, G. (2000). Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem. Pharmacol.* **59(1):95-104.**
- APRIL, W., SIMS, R. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere* **(20):253- 265.**
- BAKER, A. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition.* **14(3):643-654.**
- BALLESTEROS, J., GUARDO, S. (1988). Estudio preliminar de propagación asexual de la Caña flecha (*Gynerium sagittatum (Aubl) Beauv*). Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. Montería.
- BARBER, J., BEAUFORD, W., SHIEH, Y., (1973). Some aspects of mercury uptake by plant, algal and bacterial systems in relation to its biotransformation and volatilization. Mercury, mercurials, and mercaptans. Charles D Thomas Publisher, Illinois, USA. **325-345.**
- BARCELÓ, J., POSCHENRIEDER, C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. Barcelona. *Contributions to Science.* **2(3):333-344.**

BARREGARD, L., SVALANDER, C., SCHÜTZ, A. (1999). Cadmium, mercury, and lead in kidney cortex of the general swedish population: a study of biopsies from living kidney donors. *Environ. Health. Perspect.* **(197): 867-871.**

BAUGHMAN, T. (2006). Elemental mercury spills. *Environ. Health. Perspect.* **(114):147-152.**

BERAZAÍN, A., DE LA FUENTE, V., SÁNCHEZ, M., RUFO, I., RODRÍGUEZ, N., AMILS, R. (2007). Nickel localization on tissues of hyperaccumulator species of *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) from ultramafic areas of cuba. *Biol. Trace Element Res.* **(115):67-87.**

BHATIA, N., BAKER, A., KERRY, B., MIDMORE, J. (2005). A role for nickel in osmotic adjustment in drought-stressed plants of the nickel hyperaccumulator *Stackhousia tryonii* Bailey. *Planta.* **(223):134-139.**

BOCAYUVA, L., MAGALHÃES, V., MALM, O., OLEIVERA, E. (2005). Performance on neurological development tests by riverine children with moderate mercury exposure in Amazonia. Brazil. *Cad Saúde Pública.* **21(4):1160-1167.**

BODE, M., HAAS, M., FAYMONVILLE, T., THIEDE, B., SCHUPHAN, I., SCHMIDT, B. (2006). Biotransformation of metamitron by human P450 expressed in transgenic tobacco cell cultures. *J. Environ. Sci. Health. Part B.* **(41):201-222.**

BONTIDEANA, I., MORTARIA, A., LETHA, S., BROWNB, N., KARLSONC, U., LARSENC, M., VANGRONVELDD, J., CORBISIÈRE, P., CSOREGI, E. (2004). Biosensors for detection of mercury in contaminated soils. *Environ. Pollution.* **(131):255-262.**

BRAZIER, M., EDWARDS, L., EDWARDS, R. (2007). Selection of plants for roles in phytoremediation: The importance of glucosylation. *Plant. Biotechnol. J.* **(5):627-635.**

BRODKIN, E., COPES, R., MATTMAN, A., KENNEDY, J., KLING, R., YASSI A. (2007). Lead and mercury exposures: interpretation and action. *Canadian Medical Association.* **(176):59-63.**

BYRNS, G. (2001). The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants. *Water Res.* **35(10):2523-33.**

CALOW, P. (1993). Handbook of ecotoxicology. *Blackwell Science Ltd.*, London, England. **(1):478.**

CARBALHO, K., MCGETTIGAN, M., MARTIN, D. (2001). GC/MS analysis of volatile organic selenium species produced during phytoremediation. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* **36(7):1403-9.**

CARRASQUERO, A., ADAMS, M. (2003). Fraccionamiento de mercurio en suelos de áreas contaminadas de el Callao, estado de Bolívar-Venezuela. *Agronomía Tropical.* **53(3):331-345.**

CAVALLINI, A., NATALI, L., DURANTE M., MASERT, B. (2008) Mercury uptake, distribution and DNA affinity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) plants. *Sci. of The Total Environ.* **(243):119-127.**

CHANEY, R., MALIK, M., LI, Y., BROWN, S., BREWER, E., ANGLE, J., BAKER, A. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Curr. Op. Biotechnol.* **(8):279-284.**

CHANG, Y., YAMAMOTO, Y., RIKIISHI, S., ONO, K., KASAI, M., MATSUMOTO, H. (1994). Quatitative stimulation of aluminium toxicity in cultured tobacco cells: Correlation between aluminium uptake and growht inhibition. *Plant Cell Physiol.* **(35):575-583.**

CHAUDHRY, Q., BLOM-ZANDSTRA, M., GUPTA, S., JONER, E. (2005). Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **(12):34-48.**

CHONG, N., TSAI, S., LE, T. (2010). The biomass yielding process of xenobiotic degradation. *Bioresour Technol.* **101(12):4337-42.**

CI, D., JIANG, D., DAI, T., JING, Q., CAO, W. (2009). Effects of cadmium on plant growth and physiological traits in contrast wheat recombinant inbred lines differing in cadmium tolerance. *Chemosphere.* **77(11):1620-5.**

CLEMENS, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie.* **88(11):1707-19.**

COBBETT, C. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiology.* **(123):825-832.**

CONIGLIO, M., BUSTO, V., GONZALEZ, P., MEDINA, M., MILRAD, S., AGOSTINI, E. (2008). Application of *Brassica napus* hairy root cultures for phenol removal from aqueous solutions. *Chemosphere.* **(72):1035-1042.**

CORRALES, A., LANDERO, J., GUTIÉRREZ, J., WROBEL, K., WROBEL, K. (2009). Effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici on the degradation of humic acid associated with Cu, Pb, and Ni: an in vitro study. *Anal. Bioanal. Chem.* **394(8):2267-76.**

CUNNINGHAM, S., SHANN, J., CROWLEY, D., ANDERSON, T. (1997). Phytoremediation of contaminated soil and water. Phytoremediation of Soil and Water Contaminants (Eds.) *Am. Chem. Soc.* **(21):2-17.**

DEC, J., BOLLANG, J. (1994). Use of plant material for the decontamination of water polluted with phenols. *Biotechnol. Bioeng.* **(44):1132-1139.**

DORAN, P. (2009). Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: incentives and limitations. *Biotechnol. Bioeng.* **103(1):60-76.**

DOTY, S. (2008). Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytol.* **(179):318-333.**

EBINGHAUS, R., TRIPATHI, R., WALLSCHLAGE, R., LINDBERG, S. (1999). Natural and anthropogenic mercury sources and their impact on the air-surface exchange of mercury on regional and global scales. *Springer - Verlag.* **3-50.**

EDWARDS, S., MACLEOD, L., LESTER, J. (1998). The bioavailability of Copper and Mercury to the common nettle (*Urtica dioica*) and the earthworm *Eisenia fetida* from contaminated dredge spoil. *Wat. Air and Soil Poll.* **(102):75-90.**

EISLER, R. (2004). Mercury hazards from gold mining to humans, plants, and animals. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **(181):139-98.**

ELWES, J. (1999). Principios de Biorrecuperación, *Mac Graw Hill, México,* **275 p.**

FERNÁNDEZ, J., ACEÑOLAZA, P., MEDINA, M., LLORENS, J., SARDI, F. (2001). Assessment of smelter impact area using surface soils and plants. *Environ. Geochem. and Health.* **(23):65-78.**

FEROCI, G., BADIELLO, R., FINI, A. (2005). Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18(3):227-34.**

FLETCHER, J., GROEGER, A., MCFARLANE, J. (1987). Metabolism of 2-chlorobiphenyl by suspension cultures of Paul's Scarlet rose. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **(39):960-965.**

FRANCIS, J. (2003). *Gynerium sagittatum* (Aubl.) Beauv. U.S. Department of Agriculture. International Institute of Tropical Forestry. University of Puerto Rico, Río Piedras. Available [Online]: www.fs.fed.us/global/iitf/pdf/shrubs/Gynerium%20sagittatum.pdf

FORSTER, W., ZABKIEWICZ, J., LIU, Z. (2006). Cuticular uptake of xenobiotics into living plants. Part 2: influence of the xenobiotic dose on the uptake of bentazone, epoxiconazole and pyraclostrobin, applied in the presence of various surfactants, into *Chenopodium album*, *Sinapis alba* and *Triticum aestivum* leaves. *Pest. Manag. Sci.* **62(7):664-72.**

FUJIMURA, M., USUKI, F., SAWADA, M., TAKASHIMA, A. (2009). Methylmercury induces neuropathological changes with tau hyperphosphorylation mainly through the activation of the c-jun-N-terminal kinase pathway in the cerebral cortex, but not in the hippocampus of the mouse brain. *Neurotoxicology.* **30(6):1000-7.**

GEORGE, E. (1993). Plant propagation by tissue culture, The technology Exogetics Ltd., *Edington. England.* p **435.**

GHADERIAN, S., MOHTADI, A., RAHIMINEJAD, R., REEVES, D., BAKER, A. (2007). Hyperaccumulation of nickel by two *Alyssum* species from the serpentine soils of Iran. *Plant Soil.* **(293):91-97.**

GHOSH, M., SINGH, S. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *App. Ecol. and environ. res.* **3(1):1-18.**

GIRALDO, D. (2005). The Colombian species of the genus *Digitaria* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Caldasia.* **27(1):25-87.**

GOCHFELD, M. (2003). Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Toxicol. Environ. Safety.* **(56):174-179.**

GODBOLD, D. (1991). Mercury induced root damage in spruce seedlings. *Wat. Air and Soil Poll.* **(56):823-831.**

GODBOLD, D., HÜTTERMAN, A. (1988). Inhibition of photosynthesis and transpiration in relation to mercury induced root damage in spruce seedlings. *Phys. Plantarum.* **(74):270-275.**

GOEL, A., KUMA, R., PAYNE, G., DUBE, S. (1997). Plant cell biodegradation of a xenobiotic nitrate ester, nitroglycerin. *Nat. Biotechnol.* **(15):174-177.**

GONZÁLEZ, O. (1997). Situación regional y comparación de dos métodos de siembra por estacas de la caña flecha (*Gynerium sagittatum (aubl) beauv*) de la variedad martinera en la región de Montelibano - Córdoba. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. Montería.

GÖTHBERG, A., GREGER, M., HOLM, K., BENGTSSON, E. (2004). Influence of nutrient levels on uptake and effects of mercury, cadmium, and lead in water spinach. *J. Environ. Qual.* **(33):1247-1255.**

GUJARATHI, N., LINDEN, J. (2005). Oxytetracycline inactivation by putative reactive oxygen species released to nutrient medium of *Helianthus annuus* hairy root cultures. *Biotech. Bioeng.* **(92):393-402.**

GUJARATHI, N., HANEY, B., PARK, H., WICKRAMASINGHE, S. LINDEN, J. (2005). Hairy roots of *Helianthus annuus*: A model system to study phytoremediation of tetracycline and oxytetracycline. *Biotech. Prog.* **(21):775-780.**

HAN, Z., HU, Z. (2005). Tolerance of *Arundo donax* to heavy metals. *Ying Yong S. Tai Xue Bao.* **16(1):161-5.**

HARVEY, P., CAMPANELA, B., CASTRO, P., HARMS, H., LICHTFOUSE, E., SCHÄFFNER, A., SMRCEK, S., WERCK, D. (2002). Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **(9):29-47.**

HATCH, W., OTT, W. (1968). Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrometry. *Anal.Chem.* **(40):2085-2087.**

HERNÁNDEZ, A., J. BECERRIL, O., ZÁRATE A., GARBISU, C. (2006). Assessment of the efficiency of a metal phytoextraction process with biological indicators of soil health. *Plant and Soil.* **(281):147-158.**

HINDE, C. (2000). The global mining industry in Mining and sustainable development II. Challenges and perspectives, Industry and Environment, UNEP. **(23):95.**

HINTON, J., VEIGA, M. (2001). Mercury contaminated sites: a review of remedial solutions. Proceedings of the National Institute of Minamata Disease forum, *Minamata city, Japan*: **73-84.**

HUANG, X., SILLANPÄÄ, M., GJESSING, E., PERÄNIEMI, S., VOGT, R. (2010). Environmental impact of mining activities on the surface water quality in Tibet: Gyama valley. *Sci. Total Environ.* **408(19):4177-84.**

HUGHES, J., SHANKS, J., VANDERFORD, M., LAURITZEN, J., BHADRA, R. (1997). Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures. *Environ Sci. Technol.* **(31):266-271.**

IBÁÑEZ, N., MONTORO, R. (1996). Trace element food toxicology: an old and evergrowing discipline. *Critical Rev. in Food Sci. and Nut.* **(36):299-320.**

ISKANDAR, I., ADRIANO, D. (1997). Remediation of soils contaminated with metals. *Adv. Environ. Sci., Science Review, Northwood, UK.* p **255.**

ISLAM, E., YANG, X., HE XEN, L., MAHMOOD, Q. (2007). Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* **8(1):1-13.**

JAGADEESAN, G., KAVITHA, A. (2006). Recovery of phosphatase and transaminase activity of mercury intoxicated *Mus musculus* (Linn.) liver tissue by *Tribulus terrestris* (Linn.) (Zygophyllaceae) extract. *Trop. Biom.* **(23):45-51.**

JIAN, W., CHEN, J., WILLIAM, R., CUNNINGHAM, R. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* **(31):800-805.**

JING, Y., HE Z., YANG, X. (2007). Effects of pH, organic acids, and competitive cations on mercury desorption in soils. *Chem.* **(05):1-33.**

KABATA, A., PENDÍAS, H. (1984). Trace Elements in Soils and Plants. (2nd edition) CRC Press. Boca Ratón, Florida, EEUU. p **315.**

KABATA, A., PENDÍAS, H. (2001). Trace Elements in Soils and Plants. (3rd edition) CRC Press. Boca Ratón, Florida, EEUU. p **403.**

KALLIOLA, R., PUHAKKA, M., SALO, J. (1992). Interspecific variation, and the distribution and ecology of *Gynerium sagittatum* (Poaceae) in the western Amazon. *Flora.* **186(3-4):153-167.**

KAMNEV, H., VANDERLELIE, G. (2000). Some aspects of the enzymatic basic of phytoremediation. *J. Biol. Phys. Chem.* **(1):49-57.**

KARADA, M. (2010). Congenital minamata disease: intrauterine methylmercury poisoning. *Teratology. Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* **88(10):906-9.**

KASSEL, G., GHOSHAL, D., GOYAL, A. (2002). Phytoremediation of trichloroethylene using hybrid poplar. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* **(8):3-10.**

KIMURA, Y., MILLER, V. (1962). Mercury determination at the microgram level by a reduction-aeration method of concentration. *Analytica Chimica Acta.* **(27):325-331.**

KOMOSSA, D., GENNITY, I., SANDERMANN, H. (1992). Plant metabolism of herbicides with C-P bonds: Glyphosate. *Pestic, Biochem, Physiol.* **(43):85-94.**

KOSNETT, M. (2010). Chelation for heavy metals (arsenic, lead, and mercury): protective or perilous?. *Clin. Pharmacol. Ther.* **88(3):412-5.**

KOVACIK, J., TOMKO, J., BACKOR, M., REPCA'K, M. (2006). *Matricaria chamomilla* is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress. *Plant Growth Regul.* **(50):239-247.**

KRIKORIAN, A. (1991). Propagación clonal *in vitro*. p. 95-125. En: W. M. Roca y L. A. Mroginski (Eds). *Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicaciones.* Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Cali, Colombia. Publicación N° 151.

LAMOUREUX, G., GOUOT, J., DAVIS, D., RUSNESS, D. (1981). Pentachloronitrobenzene metabolism in peanut. 3. Metabolism in peanut cell suspension cultures. *J. Agric. Food. Chem.* **(29):996-002.**

LAURENT, F., CANLET, C., DEBRAUWER L., PASCAL, S. (2007). Metabolic fate of [14C]-2,4-dichlorophenol in tobacco cell suspension cultures. *Environ. Toxicol. Chem.* **(26):2299-2307.**

LEBEAU. T., BRAUD, A., JEZEQUEL, K. (2008). Performance of bioaugmentation assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils. *Environ. Pollut.* **(153):497-522.**

LEMON, E., BLAKE, J. (1996). Micropropagation of juvenile and mature *Annona muricata* L. *J. of Hort. Sci.* **(71): 395-403.**

LI, G., FENG, X., QIU, G., BI, X., LI, Z., ZHANG, C. (2008). Environmental mercury contamination of an artisanal zinc smelting area in Weining County. China. *Environ. Polluiont.* **154(1):21-31.**

LIU, G., CAI, Y., KALLA, P., SCHEIDT, D., RICHARDS, J., SCINTO, L. (2008). Mercury mass budget estimates and cycling seasonality in the Florida Everglades. *Environ. Sci. Tech.* **42(6):1954-60.**

- LIU, W., WANG, K., WANG, M. (2009). Physiological responses of different peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties to cadmium stress. *Ying Yong S. Tai Xue Bao.* **20(2):451-9.**
- LOMONTE, C., DORONILA, A., GREGORY, D., BAKER, A., KOLEV, S. (2010). Phytotoxicity of biosolids and screening of selected plant species with potential for mercury phytoextraction. *J. Hazard Mater.* **173(1-3):494-501.**
- LONG, G., WINEFORDNER, J. (1983). Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.* **(55):712-724.**
- LÓPEZ, E., RIVERA, S., VARGAS, M. (2005). Tratamientos pasivos de drenajes ácidos de mina: estado actual y perspectivas de futuro. *Boletín Geológico y Minero.* **(113):3-21.**
- LUX, A., ŠOTTNÍKOVÁ, A., OPATRNÁ, J., GREGER, M. (2004). Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. *Phys. Plant.* **120(4):537-545.**
- MACEK, T., MACKOVA, M., KA, J. (2000). Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotech. Adv.* **18(1):23-34.**
- MACFARLANE, G., BURCHETT, M. (2000). Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Aquatic. Bot.* **(68):45-59.**
- MADERA, T., TUIRAN, R. (1982). Estudio preliminar del cultivo de Caña flecha (*Gynerium sagittatum (aubl) beauv*) y sus beneficios. Universidad de Córdoba. Montería.
- MAGOS, L. (2003). Neurotoxic character of thimerosal and the allometric extrapolation of adult clearance half-time to infants. *J. Appl. Toxicol.* **23(4):263-9.**
- MARJORIES, S., HONG, F., FARMAYAN, J., CHEN, Y. (2001). Phytoremediation of MTBE from a Grounwater plume. *Environ. Sci. Technol.* **(35):1231-1233.**
- MARTÍNEZ, M., VELASCO, J., ALCÁNTARA, R., MILLÁN A. (2005). Bioacumulación de nutrientes en *Phragmites australis*: elemento de gestión para la reducción de la contaminación del mar menor. Encuentro internacional en fitodepuración (julio del 2005, lorca). international meeting on phytodepuration (july 2005, lorca, murcia, spain).
- MATILAINEN, T., VERTA, M., KORHONEN, H., UUSI-RAUVA, A., NIEMI, M. (2001). Behaviour of mercury in soil profiles: Impact of increased precipitation, acidity, and fertilization on mercury methylation. *Wat. Air and Soil Poll.* **125(1-4):105-119.**
- MCGRATH, S., ZHAO, F. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current. Opinion in Biotech.* **14(3):277-282.**

MEAGHER, R. (1998). Phytoremediation: An Affordable, Friendly Technology to Restore Marginal Lands in the Twenty-First Century. Available [Online]: <http://www.1sc.psu.edu/nas/Panelists/Meagher%20comment.html>. Médico-Forenses Españolas.

MEAGHER, R., HEATON, A. (2005). Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution: mercury and arsenic. *J. of Ind. Microb. and Biotech.* **(32):502-513**

MEGATELI, S., SEMSARI, S., COUDERCHET, M. (2009). Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Eco. Environ. Saf.* **72(6):1774-80.**

MENDEZ, O., RAINA M. (2008). Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. *Rev. in Environ. Sci. and Biotech.* **(7):47-59.**

MEZZARI, M., VAN AKEN, B., YOON, J., JUST, C., SCHNOOR, J. (2004). Modeling of RDX and HMX metabolism in poplar (*Populus deltoides* x *Populus nigra*, DN34) tissue culture. *Intern. J. of Phyto.* **(6):323-45.**

MILLER, J., MILLER, J. C. (2000). Statistics and chemometrics for analytical chemistry. Fourth Edition. Prentice Hall, London.

MIYA, K., FIRESTONE, K. (2001). Bioremediation and biodegradation. *J. Environ. Qual.* **(30):1911-1918.**

MOHANTY, M., DHAL, N., PATRA, P., DAS, B., REDDY, P. (2010). Phytoremediation: a novel approach for utilization of iron-ore wastes. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **(206):29-47.**

MORENO, E., GAMARRA, R., CARPENA, R., MILAN, R., PEÑALOSA, J., ESTEBAN, E. (2006). Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere.* **63 (11):1969-1973.**

MORENO, F., ANDERSON, C., STEWART, R., ROBINSON, B. (2005). Mercury volatilisation and phytoextraction from base-metal mine tailings. *Environ. Poll.* **(136):341-352.**

MORENO, F., ANDERSON, C., STEWART, R., ROBINSON, B. (2008). Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environ. and exp. Bot.* **(62):78-85**

MUKHERJEE, S., BHATTACHARYYA, P., DUTTAGUPTA, A. (2004). Heavy metal levels and esterase variations between metal-exposed and unexposed duckweed *Lemna minor*: field and laboratory studies. *Environ. Int.* **30(6):811-4.**

MUMMA, R., DAVIDONIS, G. (1983). Plant tissue culture and pesticide metabolism. *Prog. in pesticide biochem. and toxicol.* **(3):255-278.**

MURASHIGE, T, SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* **(15):473- 497.**

NAIDU, R., OLIVIER, D., MCCONNELL, S. (2003). *Heavy metal phytotoxicity in Soils*. Proceedings of the Fifth National Workshop on the Assessment of Site Contamination. *Environ. Prot. & Heritage Council.* **(24):235-241.**

NAVARRO, J., AGUILAR, A., LÓPEZ, J. (2007). Aspectos Bioquímicos y Genéticos de la tolerancia y acumulación de Metales Pesados en Plantas. *Ecosistemas.* **16(2):10-25.**

NEWMAN, L., WANG, X., MUIZNIEKS, I., EKUAN, G., RUSZAJ, M., CORTELLUCCI, R., DOMROES, D., KARSCIG, G., NEWMAN, T., CRAMPTON, R., HASHMONAY, R., YOST, M. HEILMAN P., DUFFY J., GORDON M., STRAND S. (1999). Remediation of trichloroethylene in an artificial aquifer with trees: A controlled field study. *Environ. Sci. Technol.* **(33):2257-2265.**

NOVAIS, G., CÂMARA, V. (2009). Perception of mercury contamination by Brazilian adolescents in a gold mining community: an ethnographic approach. *Cien. Saude. Colet.* **14(6):2015-26.**

NÓVOA, J., PONTEVEDRA, X, MARTÍNEZ, A, GARCÍA, E. (2008). Mercury accumulation in upland acid forest ecosystems nearby a coal-fired power-plant in southwest Europe España. *Sci. of the Total Environ.* **394(2-3):303-12.**

OLIVERO, J., JHONSON, B. (2002). El lado gris de la minería del oro: La contaminación con mercurio en el norte de Colombia. *Ed. Universitaria. Colombia.* **40-41.**

ORTEGA, C., HERNÁNDEZ, L., RELLÁN, R., DEL CAMPO, F., CARPENA, R. (2007). Rapid alteration of cellular redox homeostasis upon exposure to cadmium and mercury in alfalfa seedlings. *New Phytol.* **176(1):96-107.**

PAI, R., RAI, J. (2010). Phytochelatins: Peptides Involved in Heavy Metal Detoxification. *App. Biochem. and Biotech.* **160(3): 945-963.**

PAIS, I., JONES, Jr. (1996). Handbook on Trace Elements in the Environment. St. Lucie Press, Boca Raton, FL.

PALOMINO, M., KENNEDY, P., SIMMS, L. (2007). Nickel hyperaccumulation as an anti-herbivore trait: considering the role of tolerance to damage. *Plant Soil.* **(293):189-195.**

PATRA, M., BHOWMIKB, N., BANDOPADHYAY, C., SHARMA A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environ. and Exp. Bot.* **(52):199-223.**

PATRA, M., SHARMA, A. (2000). Mercury toxicity in plants. *The Bot. Rev.* **66(3):379-421.**

PÉREZ, L. 2010. Evaluación de la capacidad acumuladora de mercurio de especies vegetales establecidas en mina santa cruz, sur de Bolívar-Colombia. Sistema de universidades estatales del Caribe Colombiano, SUE-CARIBE. Tesis Maestría. p 166.

PHYTOREMEDIATION AT ARGONNE NATIONAL LABORATORY WEST. (2000). Waste Area Group 9, phytoremediation. *Act. Biotech.* **(22):167-173.**

PIRRONE, G., KEELER, J., NRIAGU, O. (2006). Regional differences in worldwide emissions of mercury to the atmosphere. *Atmos. Environ.* **17(3):2981-2987.**

PIVETZ, B., COCHRAN, R., HULING, S. (1997). Phytoremediation of PCP and PAH- contaminated soil. Poster 54. 12th Annual Conference on Hazardous Waste Research Abstracts Book, May 19-22, *Kansas City, Mo.* p **145.**

PIZARRO, J., VERGARA, P., RODRÍGUEZ, J., VALENZUELA, A. (2010). Heavy metals in northern Chilean rivers: spatial variation and temporal trends. *J. Hazard Mater.* **181(1-3):747-54.**

PODLIPNA, R., FIALOVA, Z., VANEK, T. (2008). Toxic effect of nitroesters on plant tissue cultures. *Plan. Cell Tiss. Organ. Cult.* **(94):305-311.**

PODLIPNA, R., NEPOVIM, A., SOUDEK, P., VAGNER, M., VANEK, T. (2007). Soapwort oxidoreductase is involved in trinitrotoluene detoxification. *Biol. Plant.* **(51):367-371.**

PRABHA, K., LORETTA, L. (2007). Phytoremediation technology: hyperaccumulation metals in plants. *Wat. air soil pollut.* **(180):207-216.**

PRADHAN, C., KAR, S. PATTNAIK, CHAND, H. (1998). Propagation of *Dalbergia issoo* Roxb through *in vitro* shoot proliferation from cotyledonary nodes. *Plan. Cell Rep.* **(18):122-126.**

PULFORD, I., WATSON, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees a review. *Environ. Inter.* **(29):529-540**

RATTNER, B. (2009). History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology.* **18(7):773-83.**

REIMANN, C., DE CARITA, P. (2005). Distinguishing between natural and anthropogenic sources for elements in the environment. *Sci. of the Total Environ.* **337(1-3):91-107.**

REPETTO, M. (1995). Toxicología avanzada. Madrid: Díaz de Santos. p **762.**

REZEK, J., MACEK, T., MACKOVA, M., TRISKA, J. (2007). Plant metabolites of polychlorinated biphenyls in hairy root culture of black nightshade *Solanum nigrum* SNC-90. *Chemosphere.* **(69):1221-1227.**

RIBEYRE, F., BOUDOU, A. (1994). Experimental study of inorganic and methylmercury bioaccumulation by four species of freshwater rooted macrophytes from water and sediment contamination sources. *Ecot. and Environ. Safety*. **(28):270-286**.

ROSS, S. (1994). Toxic metals in soil-plant systems. John Wiley, Chichester, England. p **484**.

SADIQ, M., ZAIDI, T., AL-MOHANA, M. (1991). Sample weight and digestion temperature as critical factors in mercury determination in fish. *Bull. of Environ. Contam. and Tox.* **(47):335-341**.

SAKAMOTO, M., MURATA, K., TSURUTA, K., MIYAMOTO, K., AKAGI, H. (2010). Retrospective study on temporal and regional variations of methylmercury concentrations in preserved umbilical cords collected from inhabitants of the Minamata area, Japan. *Ecotoxicol Environ. Saf.* **73(6):1144-9**.

SALT, D. (2006). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nature Biotech.* **13(5):468-474**.

SANDERMAN, H. (1992). Plant metabolism of xenobiotics. *Trends Plant. Sci.* **(1): 82-84**.

SANTOS, F., GARCÍA, A., ALONSO, P., CONTRERAS, F., ADAMS, M. (2011) Distribution and mobility of mercury in soils of a gold mining region, Cuyuni river basin, Venezuela. *J. Environ. Manage.* **92(4):1268-76**.

SCHAT, H., LLUGANY, M., VOOIJS, R., HARTLEY, J., BLEEKER, P. (2002). The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *J. of Exp. Bot.* **53(379):2381-9**.

SCHEEL, D., SANDERMANN, H. (1977). Metabolism of DDT and Kelthane in cell suspension cultures of parsley (*Petroselinum hortense*, Hoffm.) and soybean (*Glycine max L.*). *Planta.* **(133):315-320**.

SCHMIDT, B. (2001). Metabolic profiling using plant cell suspension cultures. Hall JC, Hoagland RE, Zablutowicz RM, editors. Pesticide biotransformation in plants and microorganisms. ACS Symp Ser 777. Washington DC: American Chemical Society. **40-56**.

SCHRÖDER, P., LYUBENOVA, L., HUBER, C. (2009). Do heavy metals and metalloids influence the detoxification of organic xenobiotics in plants?. *Environ Sci Pollut Res Int.* **16(7):795-804**.

SEHUANES, I., FLOREZ, H. (2003). Micropropagación *in vitro* de la caña flecha (*Gynerium sagittatum*) (aubl) beauv. c.v. "criolla" mediante el uso de segmentos nodales. Tesis de grado. Facultad de educación y ciencia. Departamento de Biología. Universidad de Sucre. Sincelejo

SEVERIN, B. (2000). Tratamiento de aguas residuales. Available [Online]: <http://www.prodigyweb.net.mx/bservin/default.htm>.

SHABAN, W., RMALLI, A., ABDELLA, A., DAHMANI, B., MOHAMED, M., ABUEIN, L. (2008). Biosorption of mercury from aqueous solutions by powdered leaves of castor tree. *J. of Hazar. Material*. **152 (3):955-999**.

SICILIANO, S., GERMIDA, J., BANKS, K., CREER, C. (2003). Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon. *Appl. Environ. Microbiol.* **(69):483-489**.

SINGH, S., EAPEN, S., THORAT, V., KAUSHIK, C., RAJ, K., D'SOUZA, S. (2008). Phytoremediation of 137cesium and 90 strontium from solutions and low-level nuclear waste by *Vetiveria zizanoi*des. *Ecot. Environ. Saf.* **69(2):306-11**.

SINGH, S., MELO, J., EAPEN, S., D'SOUZA, S. (2006). Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: Role of inherent peroxidase and H₂O₂. *J. Biotechnol.* **(123):43-49**.

SOBRINO, J., ORTEGA, C., FLORES, M., ESCOBAR, C., DEL CAMPO, F., HERNÁNDEZ, L. (2009). Differential alterations of antioxidant defenses as bioindicators of mercury and cadmium toxicity in alfalfa. *Chemosphere*. **77(7):946-54**.

STERLING, T., BALKE, N. (1988). Use of soybean (*Glycine max*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) suspension-cultured cells to study bentazon metabolism. *Weed Sci.* **(36):558-565**.

SURESH, B., SHERKHANE, P., KALE, S., EAPEN, S., RAVISHANKAR, G. (2005). Uptake and degradation of DDT by hairy root cultures of *Cichorium intybus* and *Brassica juncea*. *Chemosphere*. **(61):1288-1292**.

TABARI, S., SARAVI, S., BANDANY, G., DEHGHAN, A., SHOKRZADEH, M. (2010). Heavy metals (Zn, Pb, Cd and Cr) in fish, water and sediments sampled from Southern Caspian Sea, Iran. *Toxicol. Ind. Health*. **26(10):649-56**.

TELYSHEVA, G., DIZHBITE, T., LEBEDEVA, G., ROSINSKAJA, G., JURKJANE, V. (2002). Biotransformation of met amitron by human P450 expressed in transgenic tobacco cell cultures. *J. Environ. Sci. Health B.* **(41):201-222**.

TERZANO, R., SANTORO, A., SPAGNUOLO, M., VEKEMANS, B., MEDICI, L., JANSSENS, K., GÖTTLICHER, J., DENECKE, M., MANGOLD, S., RUGGIERO, P. (2010) Solving mercury (Hg) speciation in soil samples by synchrotron X-ray microspectroscopic techniques. *Environ. Pollut.* **158(8):2702-9**.

TOLRA, R., PONGRAC, P., POSCHENRIEDER, C., VOGEL-MIKUS, K., REGVAR, M., BARCELO, J. (2006). Distinctive effects of cadmium on glucosinolate profiles in Cd hyperaccumulator *Thlaspi praecox* and non-hyperaccumulator *Thlaspi arvense*. *Plant Soil*. **(288):333-341**.

TSUCHIYA, A., HINNERS, T., BURBACHER, T., FAUSTMAN, E., MARIËN, K. (2008). Mercury exposure from fish consumption within the Japanese and Korean communities. *Toxicol. and Environ. Health.* **71(15):1019-1031.**

ULLRICH, S., ILYUSHCHENKO, M., TANTON, T., USKOV, G. (2007). Mercury contamination in the vicinity of a derelict chlor-alkali plant Part II: contamination of the aquatic and terrestrial food chain and potential risks to the local population. *Sci. Total Environ.* **381(1-3):290-306.**

UNIDAD DE PLANEACIÓN MINERA ENERGÉTICA, UPME. (2001). Estadísticas minero energéticas. Edición No. 13. Bogotá. **220-225.**

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME, UNEP. (2000). Mining and Sustainable development II. *Challenges and Presp., Ind. and Environ.* **(23):95**

UNITED STATES PROTECTION AGENCY (USEPA). (1994). Ground Water Modeling Compendium--Second Edition, EPA 500-B-94-004

UNITED STATES PROTECTION AGENCY (USEPA). (1996). Bioremediation of hazardous waste site: practical approaches to implementation. EPA 625-K- 96-00.

UNITED STATES PROTECTION AGENCY (USEPA). (1997). Aerobic biodegradation of BETEX in aquifers material. Environmental Research Brief. EPA 600-S-97-033.

UNITED STATES PROTECTION AGENCY (USEPA). (2000). Introduction to Phytoremediation. EPA 600/R-99/107. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, OH. EPA-542- F-99-002.

VÁLEGA, M., LIMA, A., FIGUEIRA, E., PEREIRA, E., PARDAL, M., DUARTE, A. (2009). Mercury intracellular partitioning and chelation in a salt marsh plant, *Halimione portulacoides* (L.) Aellen: strategies underlying tolerance in environmental exposure. *Chemosphere.* **74(4):530-6.**

VAN AKEN, B., SCHNOOR, J. (2002). Evidence of perchlorate (ClO₄⁻) reduction in plant tissues (poplar tree) using radio-labeled ³⁶ClO₄. *Environ. Sci. Technol.* **(36):2783-2788.**

VAN AKEN, B., YOON, J., JUST, C., SCHNOOR, J. (2004). Metabolism and mineralization of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine inside poplar tissues (*Populus deltoides_nigra* DN-34). *Environ Sci Technol.* **(38):4572-4579.**

VÁZQUEZ, E. (2002). Cómo remediar desastres ecológicos utilizando aplicaciones biológicas. Gaceta Universidad Veracruzana. No. 49. Available [Online]: <http://www.uv.mx/gaceta/49/ventana/como.htm>.

VÁZQUEZ, S., GOLDSBROUGH, P., CARPENA, R. (2009). Comparative analysis of the contribution of phytochelatins to cadmium and arsenic tolerance in soybean and white lupin. *Plant Physiol. and Biochem.* **47(1):63-67.**

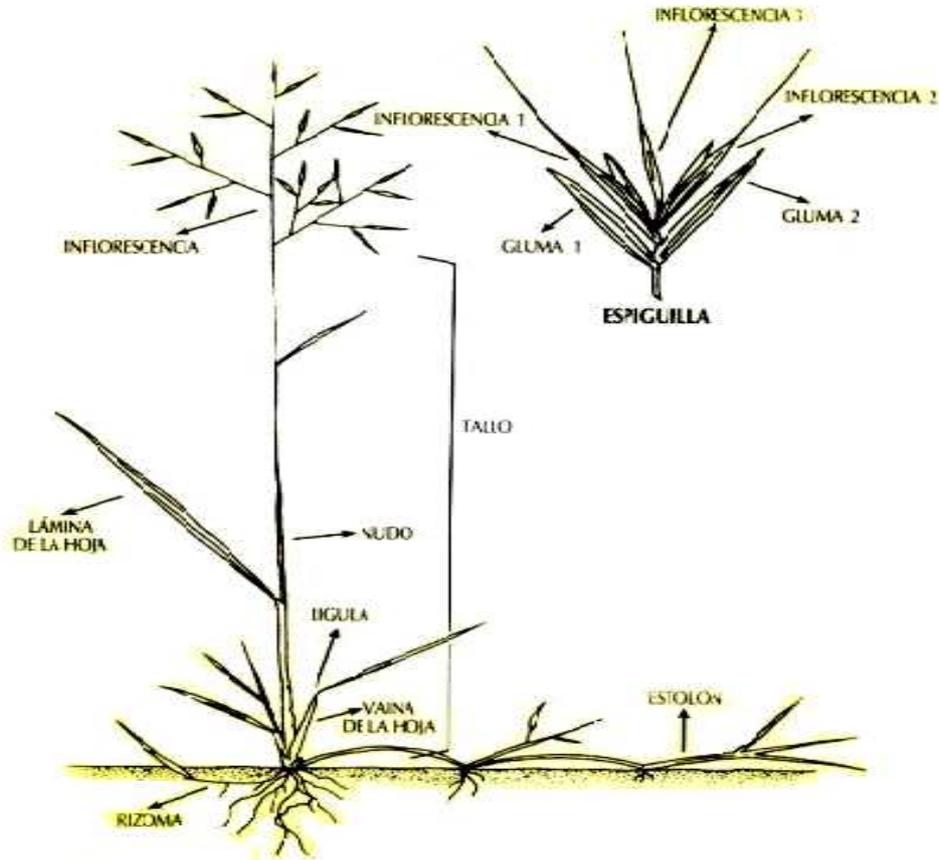
- VERMA, P., GEORGE, K., SINGH, H., SINGH, S., JUWARKAR, A. Y SINGH, R. (2006). Modeling rhizofiltration: heavy-metal uptake by plant roots. *Environ. Modeling and Assess.* **(11):387-394.**
- VIDAL, J., MARRUGO, J., JARAMILLO, B., PEREZ, L. (2010). Remediación de suelos contaminados con mercurio utilizando guarumo (*Cecropia peltata*). *Revista Científica de Ingeniería y Desarrollo.* No. **27.**
- VOLLENWEIDER, P., MENARD, T., GÜNTHARDT, M. (2011). Compartmentation of metals in foliage of *Populus tremula* grown on soils with mixed contamination. I. From the tree crown to leaf cell level. *Environ. Pollut.* **159(1):324-36.**
- WALPOLE, R., MYERS, R. (1992). Probabilidad y Estadística. Cuarta Edición. McGraw-Hill. Interamericana de México S.A. México.
- WANG, Y. (2004). Phytoremediation of mercury by terrestrial plants. Doctoral thesis. Department of Botany, Stockholm University. **1-41.**
- WANG, Y., GREGER, M. (2004). Clonal differences in mercury tolerance, accumulation, and distribution in willow. *J. Environ. Qual.* **33(5):1779-1785.**
- WATANABE, M., SUZUKI T. (2002). Involvement of reactive oxygen stress in cadmium-induced cellular damage in *Euglena gracilis*. *Toxicol. & Pharm.* **(131):491-500**
- WATT, M., EVANS, J. (1999). Proteoid roots physiology and development. *Plant Physiol.* **(121):317-323.**
- WEI, G., MA, Z. (2010). Application of rhizobia-legume symbiosis for remediation of heavy-metal contaminated soils. *Wei Sheng Wu Xue Bao.* **50(11):1421-30.**
- WETZEL, S., BANKS, M., SCHWAB, A. (1997). Rhizosphere effects on the degradation of pyrene and anthracene in soil. En: Phytoremediation of soil and water contaminants. Chem. Soc. Symposium Series 664. Washington, DC.
- WEVAR OLLER, A., AGOSTINI, E., TALANO, M., CAPOZUCCA, C., MILRAD, S., TIGIER, H., MEDINA, M. (2005). Overexpression of a basic peroxidase in transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. *Pera*) hairy roots increases phytoremediation of phenol. *Plant Sci.* **(169):1102-1111.**
- WOODSON, T. (1939). A New Mercury Vapor Detector. *Rev. of Sci. Instrum.* **(10):308-311.**
- WU, Q., WEI, Z., OUYANG, Y. (2007). Phytoextraction of Metal-Contaminated Soil by *Sedum alfredii* H: Effects of Chelator and Co-planting. *Wat. Air Soil Pollut.* **(180):131-139.**
- XIA, H. (2004). Ecological rehabilitation and phytoremediation with four grasses in oil shale mined land. *Chemosphere.* **(54):345-353.**

- XIAO, H., CHENG, S., WU, Z. (2010). Microbial community variation in phytoremediation of triazophos by *Canna indica* Linn. in a hydroponic system. *J. Environ. Sci.* **22(8):1225-31.**
- YAMAMURA, Y., SAHIN, F., NAGATSU, A., MIZUKAMI, H. (2003). Molecular cloning and characterization of a cDNA encoding a novel apoplastic protein preferentially expressed in a shikonin-producing callus strain of *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Cell. Physiol.* **44(4):437-46.**
- YAP, C., ISMAIL, A., TAN, S., OMAR, H. KOYAMA, J. (2007). Tolerance of high inorganic mercury of *Perna viridis*: laboratory studies of its accumulation, depuration and distribution. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. **11(3):119-125.**
- ZHANG, Z., CHEN, B., QIU, B. (2010). Phytochelatin synthesis plays a similar role in shoots of the cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii* as in non-resistant plants. *Plant Cell Environ.* **33(8):1248-55.**
- ZHENG, Y., LIU, Y., HU, H., HE, J. (2008). Mercury in soils of three agricultural experimental stations with long-term fertilization in China. *Chemosphere.* **72(9):1274-8.**
- ZHOU, Z., WANG, S., YANG, Z. (2008). Biological detection and analysis of mercury toxicity to alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Chemosphere.* **70(8):1500-9.**
- ZHUANG, P., YE, Z., LAN, C., XIE, M. SHU, W. (2005). Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. *Plant and Soil.* **(276):153-162.**

Anexos

Anexo 1.

Características morfológicas típicas de la familia de las Poaceas.



Tomado de: Universidad estatal a distancia de Costa Rica. Cursos virtuales. Agrostología. Disponible en:

www.uned.ac.cr/recursos/cursos/agrostologia/files/cap%201%20prin.htm

Anexo 2.

Composición del medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) (1962).

Anexo 1. Medio de Cultivo Murashige & Skoog (MS) (1962)								
No.	SOLUCIONES	CONCENTRACIÓN FINAL	CONCENTRACIÓN	g/LITRO	g/500 mL	VOL./500 mL DE MEDIO	VOL. 1000 mL DE MEDIO	VOL. 2000 mL DE MEDIO
I	NH ₄ NO ₃	1650	50X	82.5	41.25	10	20	40
II	KNO ₃	1900	50X	95.0	47.50	10	20	40
III	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	50X	22.0	11.00	10	20	40
IV	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	50X	18.5	9.25	10	20	40
V	KH ₂ PO ₄	170	50X	8.50	4.25	10	20	40
VI	Na ₂ EDTA	37.3	100X	3.73	1.865	5	10	20
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8	100X	2.78	1.39			
VII	Microelementos							
1	H ₃ BO ₃	6.2	100X	0.62				
2	MnSO ₄ ·H ₂ O	16.9	100X	1.69				
3	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	5.3669	100X	0.5367				
4	KI	0.83	100X	0.083		5	10	20
5	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	100X	0.025				
6	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	100X	0.0025				
7	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	100X	0.0025				
VIII	Vitaminas							
4	Thiamine HCl	4	1000x	1.0				
	Myo Inositol					0.05 g	0.1 g	0.2 g
	Sacarosa					15.0 g	30.0 g	60.0 g

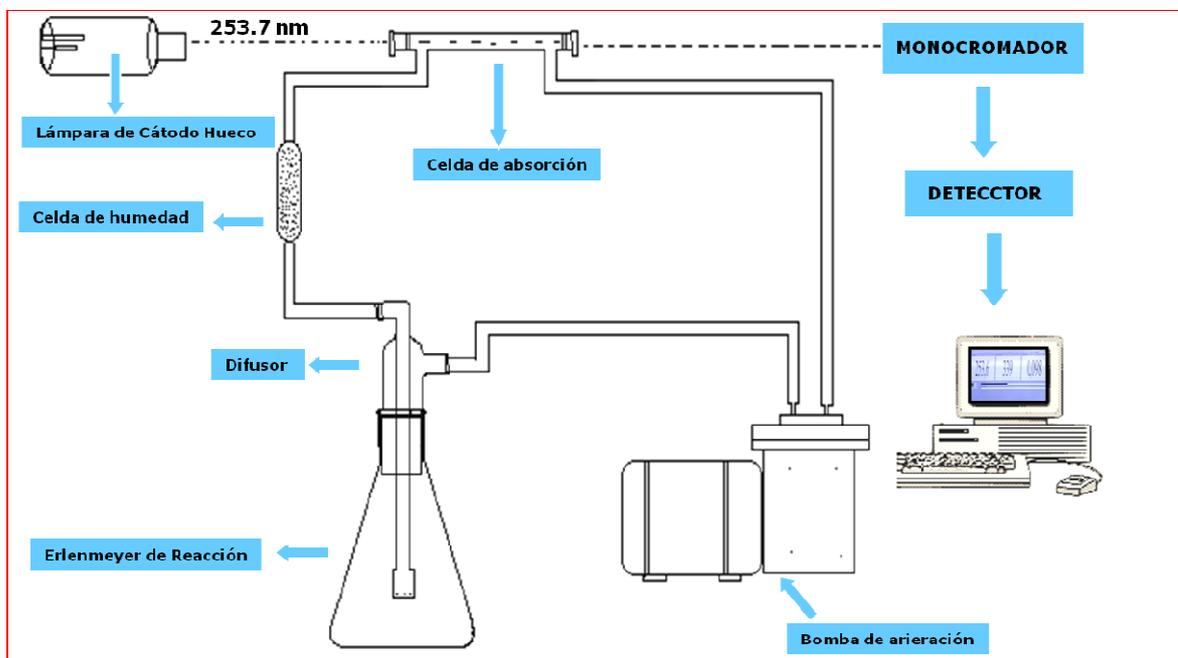
Anexo 3.

Procedimiento de digestión y análisis de las muestras por el método de espectroscopia de absorción atómica de vapor frío.

- Se pesan 10 a 30 mg de muestra de tejido en un erlenmeyer de reacción previamente lavados con una solución 1:1 de HNO₃, enjuagados con agua desionizada y totalmente secos.
- Adicionar cuidadosamente sobre un baño de hielo, 10.0 mL de una mezcla ácida 7:3 de H₂SO₄ – HNO₃.
- Colocar una lámina de papel aluminio a cada erlenmeyer y calentar en un baño de agua termostatado a 90 °C por 3 horas.
- Enfriar sobre un baño de hielo y agregar 8.0 mL de una solución de KMnO₄ al 5% y agitar.
- Calentar nuevamente en un baño termostatado a 80 °C por 30 minutos.
- Enfriar y aforar hasta 50.0 mL con agua desionizada.
- Adicionar 4.0 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina al 1.5% y agitar. Después de esta adición la muestra se volverá incolora aproximadamente en 20 segundos, de lo contrario adicionar más solución hasta obtener una solución incolora.
- Añadir 1.0 mL de una solución al 10% de SnCl₂ a la muestra e inmediatamente insertar el difusor de aire en el erlenmeyer de reacción.
- Esperar durante un minuto e inmediatamente pasar aire a un flujo aproximado de 2.5 LPM por medio de un compresor.
- Leer o registrar el valor de máxima absorbancia de la muestra en el equipo de absorción atómica y determinar su concentración utilizando la curva de calibración.

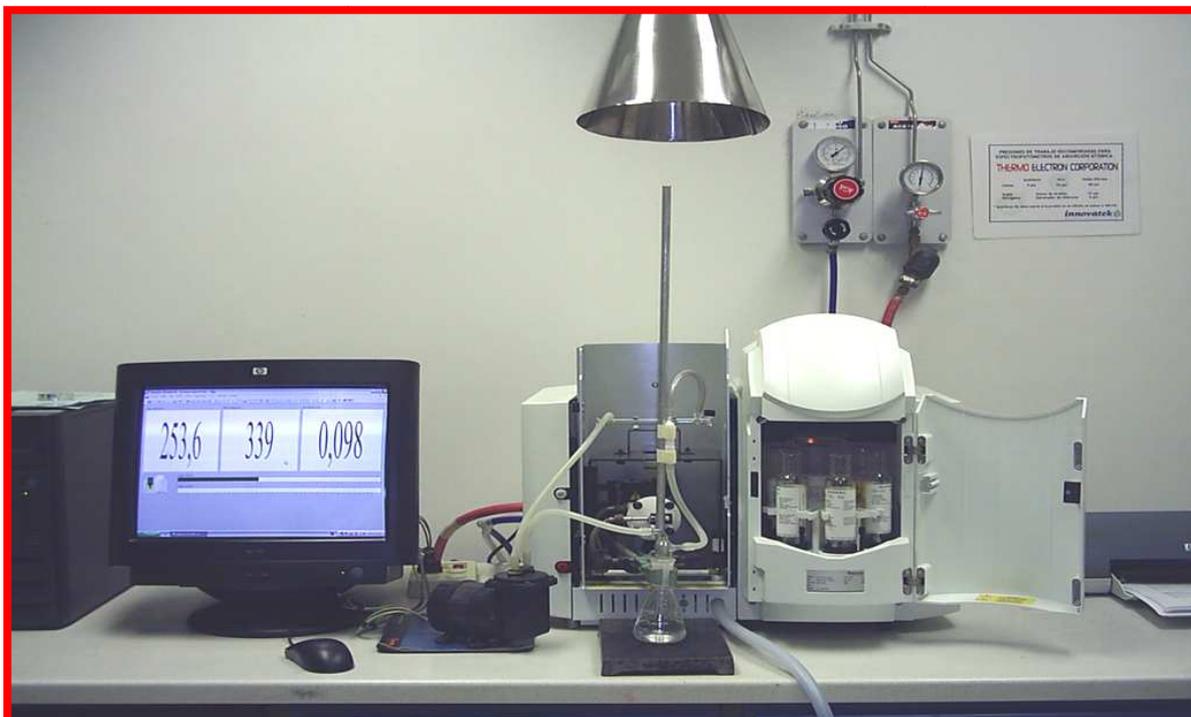
Anexo 4.

Esquema de la determinación de HgT por el método de espectroscopia de absorción atómica de vapor frío.



Anexo 5.

Equipo acoplado a vapor frío.



Anexo 6.

Concentraciones de HgT obtenidas al realizar el análisis de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días.

20 días				40 días				60 días			
Muestra	$\mu\text{g HgT g}^{-1}$	$\pm S$	$[\mu\text{g g}^{-1}]$	Muestra	$\mu\text{g HgT g}^{-1}$	$\pm S$	$[\mu\text{g g}^{-1}]$	Muestra	$\mu\text{g HgT g}^{-1}$	$\pm S$	$[\mu\text{g g}^{-1}]$
0-I-R1	0,00	0,001	0	0-II-R1	0,00	0,001	0	0-III-R1	0,00	0,001	0
0-I-R2	0,00	0,000		0-II-R2	0,00	0,000		0-III-R2	0,00	0,000	
0-I-R3	0,01	0,001		0-II-R3	0,01	0,001		0-III-R3	0,01	0,001	
0-I-R4	0,00	0,000		0-II-R4	0,00	0,000		0-III-R4	0,00	0,000	
0-I-R5	0,00	0,000		0-II-R5	0,00	0,000		0-III-R5	0,00	0,000	
Media (\bar{X})	0,00	0,000		Media (\bar{X})	0,00	0,000		Media (\bar{X})	0,00	0,000	
1-I-R1	1,82	0,035	5	1-II-R1	2,77	0,025	5	1-III-R1	4,6	0,03	5
1-I-R2	1,55	0,024		1-II-R2	2,65	0,029		1-III-R2	4,4	0,035	
1-I-R3	1,26	0,027		1-II-R3	2,35	0,032		1-III-R3	3,9	0,04	
1-I-R4	1,74	0,025		1-II-R4	2,54	0,034		1-III-R4	4,2	0,042	
1-I-R5	1,85	0,029		1-II-R5	2,71	0,051		1-III-R5	4,5	0,062	
Media (\bar{X})	1,64	0,244		Media (\bar{X})	2,60	0,165		Media (\bar{X})	4,32	0,277	
2-I-R1	2,18	0,085	10	2-II-R1	4,37	0,095	10	2-III-R1	7,2	0,116	10
2-I-R2	2,45	0,062		2-II-R2	5,75	0,066		2-III-R2	9,5	0,08	
2-I-R3	2,29	0,07		2-II-R3	5,35	0,079		2-III-R3	8,8	0,096	
2-I-R4	2,12	0,05		2-II-R4	4,84	0,02		2-III-R4	8	0,024	
2-I-R5	2,24	0,06		2-II-R5	5,03	0,02		2-III-R5	8,3	0,024	
Media (\bar{X})	2,26	0,126		Media (\bar{X})	5,07	0,521		Media (\bar{X})	8,36	0,862	
3-I-R1	3,32	0,033	15	3-II-R1	6,8	0,081	15	3-III-R1	11,2	0,098	15
3-I-R2	4,88	0,035		3-II-R2	8,73	0,063		3-III-R2	14,4	0,077	
3-I-R3	3,43	0,032		3-II-R3	7,19	0,049		3-III-R3	11,9	0,06	
3-I-R4	4,56	0,029		3-II-R4	8,23	0,02		3-III-R4	13,6	0,024	
3-I-R5	4,12	0,025		3-II-R5	7,6	0,021		3-III-R5	12,5	0,025	
Media (\bar{X})	4,06	0,684		Media (\bar{X})	7,71	0,778		Media (\bar{X})	12,72	1,287	
4-I-R1	6,95	0,052	25	4-II-R1	12,25	0,024	25	4-III-R1	20,2	0,029	25
4-I-R2	5,43	0,097		4-II-R2	10,12	0,027		4-III-R2	16,7	0,033	
4-I-R3	7,05	0,086		4-II-R3	13,56	0,029		4-III-R3	22,4	0,035	
4-I-R4	6,25	0,078		4-II-R4	12,16	0,043		4-III-R4	20,1	0,052	
4-I-R5	6,31	0,091		4-II-R5	12,43	0,08		4-III-R5	20,5	0,097	
Media (\bar{X})	6,40	0,651		Media (\bar{X})	12,10	1,244		Media (\bar{X})	19,98	2,058	
5-I-R1	11,57	0,067	75	5-II-R1	25,25	0,055	75	5-III-R1	41,7	0,067	75
5-I-R2	13,73	0,08		5-II-R2	33,3	0,066		5-III-R2	54,9	0,08	
5-I-R3	12,86	0,075		5-II-R3	30,39	0,016		5-III-R3	50,1	0,02	
5-I-R4	18,95	0,086		5-II-R4	40,79	0,016		5-III-R4	67,3	0,02	
5-I-R5	17,36	0,092		5-II-R5	39,92	0,067		5-III-R5	65,9	0,082	
Media (\bar{X})	14,89	3,125		Media (\bar{X})	33,93	6,542		Media (\bar{X})	55,98	10,796	

Anexo 7.

Concentraciones de HgT obtenidas al realizar el análisis de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días.

20 Dias				40 Dias				60 dias																																																																																																																																																																																													
Muestra	µgHgT/g	±S	[µg g ⁻¹]	Muestra	µgHgT/g	±S	[µg g ⁻¹]	Muestra	µgHgT/g	±S	[µg g ⁻¹]																																																																																																																																																																																										
0-I-T1	0,00	0,000	0	0-II-T1	0,00	0,000	0	0-III-T1	0,00	0,000	0																																																																																																																																																																																										
0-I-T2	0,01	0,001		0-I-T3	0,00	0,000		0-I-T4	0,01	0,001		0-I-T5	0,00	0,000	Media (X̄)	0,00	0,000	1-I-T1	0,32	0,062	5	1-II-T1	0,51	0,067	5	1-III-T1	0,8	0,082	5	1-I-T2	0,38	0,048	1-I-T3	0,35	0,069	1-I-T4	0,37	0,068	1-I-T5	0,34	0,096	Media (X̄)	0,35	0,024	2-I-T1	0,98	0,048	10	2-II-T1	1,57	0,058	10	2-III-T1	2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4	0,25	0,039	2-I-T5	0,56	0,026	Media (X̄)	0,48	0,317	3-I-T1	1,7	0,037	15	3-II-T1	2,46	0,13	15	3-III-T1	4,1	0,158	15	3-I-T2	0,19	0,089	3-I-T3	0,46	0,068	3-I-T4	0,38	0,078	3-I-T5	0,65	0,069	Media (X̄)	0,68	0,596	4-I-T1	0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86	0,079	25	4-III-T1	3,1	0,096	25	4-I-T2	2,65	0,059	4-I-T3	0,78	0,051	4-I-T4	1,19	0,043	4-I-T5	0,84	0,051	Media (X̄)	1,27	0,790	5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																													
0-I-T3	0,00	0,000		0-I-T4	0,01	0,001		0-I-T5	0,00	0,000		Media (X̄)	0,00	0,000	1-I-T1	0,32	0,062	5	1-II-T1	0,51		0,067	5	1-III-T1		0,8	0,082	5		1-I-T2	0,38	0,048	1-I-T3	0,35	0,069	1-I-T4	0,37	0,068	1-I-T5	0,34	0,096	Media (X̄)	0,35	0,024	2-I-T1	0,98	0,048		10	2-II-T1	1,57		0,058	10	2-III-T1		2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4	0,25	0,039	2-I-T5	0,56	0,026	Media (X̄)	0,48	0,317		3-I-T1	1,7	0,037		15	3-II-T1	2,46		0,13	15	3-III-T1	4,1	0,158	15	3-I-T2	0,19	0,089	3-I-T3	0,46	0,068	3-I-T4	0,38	0,078	3-I-T5	0,65	0,069		Media (X̄)	0,68	0,596		4-I-T1	0,87	0,079		25	4-II-T1	1,86	0,079	25	4-III-T1	3,1	0,096	25	4-I-T2	2,65	0,059	4-I-T3	0,78	0,051	4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																	
0-I-T4	0,01	0,001		0-I-T5	0,00	0,000		Media (X̄)	0,00	0,000		1-I-T1	0,32	0,062	5	1-II-T1	0,51		0,067	5		1-III-T1		0,8		0,082	5			1-I-T2	0,38	0,048	1-I-T3	0,35	0,069	1-I-T4	0,37	0,068	1-I-T5	0,34	0,096	Media (X̄)	0,35	0,024	2-I-T1	0,98	0,048			10	2-II-T1		1,57		0,058		10	2-III-T1		2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4	0,25	0,039	2-I-T5	0,56	0,026		Media (X̄)	0,48	0,317			3-I-T1	1,7		0,037		15	3-II-T1	2,46		0,13	15	3-III-T1	4,1	0,158	15	3-I-T2	0,19	0,089	3-I-T3	0,46	0,068		3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65	0,069			Media (X̄)	0,68	0,596		4-I-T1	0,87	0,079		25	4-II-T1	1,86	0,079	25	4-III-T1	3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																					
0-I-T5	0,00	0,000		Media (X̄)	0,00	0,000		1-I-T1	0,32	0,062		5	1-II-T1	0,51		0,067	5		1-III-T1			0,8		0,082		5				1-I-T2	0,38	0,048	1-I-T3	0,35	0,069	1-I-T4	0,37	0,068	1-I-T5	0,34	0,096	Media (X̄)	0,35	0,024	2-I-T1	0,98	0,048				10		2-II-T1		1,57			0,058		10	2-III-T1		2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4	0,25	0,039		2-I-T5	0,56	0,026			Media (X̄)	0,48		0,317			3-I-T1	1,7		0,037		15	3-II-T1	2,46		0,13	15	3-III-T1	4,1	0,158	15		3-I-T2	0,19	0,089		3-I-T3	0,46	0,068			3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65	0,069			Media (X̄)	0,68	0,596		4-I-T1	0,87	0,079			25	4-II-T1	1,86		0,079	25	4-III-T1		3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663									
Media (X̄)	0,00	0,000		1-I-T1	0,32	0,062		5	1-II-T1	0,51			0,067	5		1-III-T1			0,8			0,082		5						1-I-T2	0,38	0,048	1-I-T3	0,35	0,069	1-I-T4	0,37	0,068	1-I-T5	0,34	0,096	Media (X̄)	0,35	0,024	2-I-T1	0,98	0,048						10		2-II-T1			1,57			0,058		10	2-III-T1		2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114		2-I-T4	0,25	0,039			2-I-T5	0,56		0,026			Media (X̄)	0,48		0,317			3-I-T1	1,7		0,037		15	3-II-T1	2,46			0,13	15	3-III-T1		4,1	0,158	15			3-I-T2	0,19	0,089		3-I-T3	0,46	0,068			3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65	0,069				Media (X̄)	0,68		0,596		4-I-T1		0,87	0,079			25	4-II-T1	1,86		0,079	25	4-III-T1		3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058
1-I-T1	0,32	0,062	5	1-II-T1	0,51	0,067	5		1-III-T1	0,8	0,082		5																																																																																																																																																																																								
1-I-T2	0,38	0,048		1-I-T3	0,35	0,069			1-I-T4	0,37	0,068					1-I-T5			0,34		0,096	Media (X̄)			0,35				0,024	2-I-T1	0,98	0,048	10	2-II-T1	1,57	0,058	10	2-III-T1	2,6	0,071	10	2-I-T2	0,18	0,108	2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4				0,25			0,039	2-I-T5		0,56			0,026			Media (X̄)		0,48	0,317		3-I-T1	1,7	0,037	15	3-II-T1	2,46	0,13	15	3-III-T1	4,1	0,158		15	3-I-T2	0,19	0,089			3-I-T3	0,46		0,068			3-I-T4	0,38		0,078			3-I-T5	0,65		0,069	Media (X̄)		0,68	0,596	4-I-T1	0,87		0,079		25	4-II-T1	1,86		0,079	25	4-III-T1			3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3		0,78	0,051	4-I-T4	1,19		0,043	4-I-T5	0,84	0,051				Media (X̄)	1,27		0,790		5-I-T1		6,54	0,12			75	5-II-T1	10,5		0,098	75	5-III-T1		17,3	0,12	75		5-I-T2	3,61	0,106		5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663													
1-I-T3	0,35	0,069		1-I-T4	0,37	0,068			1-I-T5	0,34	0,096					Media (X̄)		0,35	0,024		2-I-T1	0,98	0,048		10			2-II-T1	1,57	0,058	10	2-III-T1		2,6	0,071	10		2-I-T2	0,18	0,108		2-I-T3	0,42	0,114	2-I-T4	0,25	0,039	2-I-T5	0,56			0,026		Media (X̄)	0,48	0,317		3-I-T1	1,7		0,037			15		3-II-T1	2,46		0,13	15	3-III-T1		4,1	0,158	15		3-I-T2	0,19	0,089	3-I-T3		0,46	0,068	3-I-T4	0,38		0,078	3-I-T5	0,65	0,069			Media (X̄)	0,68		0,596			4-I-T1	0,87		0,079	25		4-II-T1	1,86	0,079	25		4-III-T1	3,1		0,096	25	4-I-T2	2,65		0,059	4-I-T3		0,78	0,051			4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5		0,84	0,051	Media (X̄)	1,27		0,790	5-I-T1	6,54	0,12		75		5-II-T1	10,5	0,098	75		5-III-T1	17,3	0,12	75				5-I-T2	3,61		0,106		5-I-T3		6,28	0,102			5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																					
1-I-T4	0,37	0,068		1-I-T5	0,34	0,096			Media (X̄)	0,35	0,024				2-I-T1	0,98		0,048	10	2-II-T1	1,57	0,058	10				2-III-T1	2,6	0,071	10		2-I-T2		0,18	0,108			2-I-T3	0,42	0,114		2-I-T4	0,25	0,039	2-I-T5	0,56	0,026	Media (X̄)	0,48	0,317		3-I-T1		1,7	0,037	15	3-II-T1	2,46	0,13		15	3-III-T1				4,1	0,158		15		3-I-T2		0,19	0,089			3-I-T3	0,46	0,068	3-I-T4		0,38	0,078	3-I-T5	0,65	0,069	Media (X̄)	0,68	0,596	4-I-T1	0,87		0,079	25	4-II-T1	1,86			0,079	25		4-III-T1			3,1	0,096	25			4-I-T2	2,65		0,059		4-I-T3	0,78		0,051	4-I-T4	1,19	0,043	4-I-T5		0,84	0,051	Media (X̄)	1,27	0,790	5-I-T1		6,54	0,12	75	5-II-T1		10,5	0,098	75	5-III-T1				17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106			5-I-T3		6,28	0,102	5-I-T4	3,21		0,096	5-I-T5	3,35	0,058			Media (X̄)	4,60	1,663																													
1-I-T5	0,34	0,096		Media (X̄)	0,35	0,024			2-I-T1	0,98	0,048	10			2-II-T1	1,57	0,058	10		2-III-T1	2,6	0,071				10	2-I-T2	0,18	0,108			2-I-T3		0,42	0,114			2-I-T4	0,25	0,039		2-I-T5	0,56	0,026	Media (X̄)	0,48	0,317	3-I-T1	1,7	0,037	15	3-II-T1		2,46	0,13		15	3-III-T1	4,1	0,158		15			3-I-T2	0,19	0,089				3-I-T3		0,46	0,068			3-I-T4	0,38	0,078	3-I-T5		0,65	0,069	Media (X̄)	0,68	0,596	4-I-T1	0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86	0,079		25	4-III-T1	3,1		0,096		25	4-I-T2			2,65	0,059				4-I-T3	0,78		0,051		4-I-T4	1,19		0,043	4-I-T5	0,84	0,051	Media (X̄)		1,27	0,790	5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12		75	5-I-T2			3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102			5-I-T4		3,21	0,096	5-I-T5	3,35		0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																		
Media (X̄)	0,35	0,024		2-I-T1	0,98	0,048		10	2-II-T1	1,57	0,058			10	2-III-T1	2,6	0,071			10	2-I-T2	0,18		0,108			2-I-T3	0,42	0,114			2-I-T4		0,25	0,039			2-I-T5	0,56	0,026		Media (X̄)	0,48	0,317	3-I-T1	1,7	0,037	15	3-II-T1	2,46		0,13	15	3-III-T1	4,1			0,158	15	3-I-T2			0,19		0,089	3-I-T3	0,46	0,068			3-I-T4		0,38	0,078			3-I-T5	0,65	0,069	Media (X̄)		0,68	0,596	4-I-T1	0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86		0,079	25	4-III-T1			3,1	0,096	25	4-I-T2			2,65		0,059	4-I-T3	0,78			0,051	4-I-T4	1,19		0,043		4-I-T5	0,84		0,051	Media (X̄)	1,27	0,790	5-I-T1		6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5		0,098	75	5-III-T1			17,3	0,12	75			5-I-T2		3,61	0,106	5-I-T3			6,28	0,102	5-I-T4	3,21		0,096	5-I-T5		3,35	0,058	Media (X̄)	4,60		1,663																																					
2-I-T1	0,98	0,048	10	2-II-T1	1,57	0,058	10		2-III-T1	2,6	0,071		10																																																																																																																																																																																								
2-I-T2	0,18	0,108		2-I-T3	0,42	0,114			2-I-T4	0,25	0,039				2-I-T5	0,56	0,026				Media (X̄)	0,48		0,317			3-I-T1	1,7	0,037			15	3-II-T1	2,46	0,13		15	3-III-T1	4,1	0,158	15	3-I-T2	0,19	0,089	3-I-T3	0,46	0,068		3-I-T4	0,38		0,078		3-I-T5	0,65			0,069		Media (X̄)			0,68		0,596	4-I-T1	0,87	0,079			25	4-II-T1	1,86	0,079		25	4-III-T1	3,1	0,096	25	4-I-T2	2,65	0,059	4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19		0,043		4-I-T5			0,84	0,051		Media (X̄)			1,27		0,790	5-I-T1	6,54			0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21		0,096		5-I-T5			3,35	0,058				Media (X̄)		4,60	1,663																																																						
2-I-T3	0,42	0,114		2-I-T4	0,25	0,039			2-I-T5	0,56	0,026				Media (X̄)	0,48	0,317				3-I-T1	1,7		0,037	15		3-II-T1	2,46	0,13		15		3-III-T1	4,1	0,158	15		3-I-T2	0,19	0,089		3-I-T3	0,46	0,068	3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65		0,069		Media (X̄)	0,68			0,596		4-I-T1			0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86	0,079		25		4-III-T1	3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051	4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84		0,051		Media (X̄)			1,27	0,790		5-I-T1			6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5		0,098	75		5-III-T1	17,3	0,12	75		5-I-T2	3,61	0,106		5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35		0,058		Media (X̄)			4,60	1,663																																																													
2-I-T4	0,25	0,039		2-I-T5	0,56	0,026			Media (X̄)	0,48	0,317				3-I-T1	1,7	0,037		15		3-II-T1	2,46	0,13	15			3-III-T1	4,1	0,158	15			3-I-T2	0,19	0,089			3-I-T3	0,46	0,068		3-I-T4	0,38	0,078	3-I-T5	0,65	0,069		Media (X̄)	0,68		0,596		4-I-T1	0,87	0,079		25		4-II-T1	1,86		0,079	25		4-III-T1	3,1	0,096	25			4-I-T2	2,65	0,059			4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043	4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27		0,790		5-I-T1	6,54		0,12	75		5-II-T1	10,5		0,098	75		5-III-T1	17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106			5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60		1,663																																																																			
2-I-T5	0,56	0,026		Media (X̄)	0,48	0,317			3-I-T1	1,7	0,037	15			3-II-T1	2,46	0,13	15			3-III-T1	4,1	0,158			15	3-I-T2	0,19	0,089				3-I-T3	0,46	0,068			3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65	0,069	Media (X̄)	0,68	0,596		4-I-T1	0,87	0,079	25		4-II-T1	1,86	0,079	25			4-III-T1	3,1	0,096	25			4-I-T2	2,65	0,059				4-I-T3	0,78	0,051			4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051	Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75		5-II-T1	10,5	0,098	75			5-III-T1	17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102			5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																																																								
Media (X̄)	0,48	0,317		3-I-T1	1,7	0,037		15	3-II-T1	2,46	0,13			15	3-III-T1	4,1	0,158			15	3-I-T2	0,19	0,089				3-I-T3	0,46	0,068				3-I-T4	0,38	0,078			3-I-T5	0,65	0,069		Media (X̄)	0,68	0,596	4-I-T1	0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86	0,079		25	4-III-T1	3,1	0,096			25	4-I-T2	2,65	0,059				4-I-T3	0,78	0,051				4-I-T4	1,19	0,043			4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790	5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12			75	5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102				5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																											
3-I-T1	1,7	0,037	15	3-II-T1	2,46	0,13	15		3-III-T1	4,1	0,158		15																																																																																																																																																																																								
3-I-T2	0,19	0,089		3-I-T3	0,46	0,068			3-I-T4	0,38	0,078				3-I-T5	0,65	0,069				Media (X̄)	0,68	0,596				4-I-T1	0,87	0,079			25	4-II-T1	1,86	0,079		25	4-III-T1	3,1	0,096	25	4-I-T2	2,65	0,059	4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043			4-I-T5	0,84	0,051				Media (X̄)	1,27	0,790				5-I-T1	6,54	0,12			75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058				Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																
3-I-T3	0,46	0,068		3-I-T4	0,38	0,078			3-I-T5	0,65	0,069				Media (X̄)	0,68	0,596				4-I-T1	0,87	0,079		25		4-II-T1	1,86	0,079		25		4-III-T1	3,1	0,096	25		4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051	4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051			Media (X̄)	1,27	0,790				5-I-T1	6,54	0,12			75	5-II-T1	10,5	0,098		75		5-III-T1	17,3	0,12	75		5-I-T2	3,61	0,106		5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058			Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																						
3-I-T4	0,38	0,078		3-I-T5	0,65	0,069			Media (X̄)	0,68	0,596				4-I-T1	0,87	0,079		25		4-II-T1	1,86	0,079	25			4-III-T1	3,1	0,096	25			4-I-T2	2,65	0,059			4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043	4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790			5-I-T1	6,54	0,12		75		5-II-T1	10,5	0,098		75		5-III-T1	17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106			5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																											
3-I-T5	0,65	0,069		Media (X̄)	0,68	0,596			4-I-T1	0,87	0,079	25			4-II-T1	1,86	0,079	25			4-III-T1	3,1	0,096			25	4-I-T2	2,65	0,059				4-I-T3	0,78	0,051			4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051	Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12	75		5-II-T1	10,5	0,098	75			5-III-T1	17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102			5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																															
Media (X̄)	0,68	0,596		4-I-T1	0,87	0,079		25	4-II-T1	1,86	0,079			25	4-III-T1	3,1	0,096			25	4-I-T2	2,65	0,059				4-I-T3	0,78	0,051				4-I-T4	1,19	0,043			4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790	5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12			75	5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102				5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																		
4-I-T1	0,87	0,079	25	4-II-T1	1,86	0,079	25		4-III-T1	3,1	0,096		25																																																																																																																																																																																								
4-I-T2	2,65	0,059		4-I-T3	0,78	0,051			4-I-T4	1,19	0,043				4-I-T5	0,84	0,051				Media (X̄)	1,27	0,790				5-I-T1	6,54	0,12			75	5-II-T1	10,5	0,098		75	5-III-T1	17,3	0,12	75	5-I-T2	3,61	0,106	5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058				Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																							
4-I-T3	0,78	0,051		4-I-T4	1,19	0,043			4-I-T5	0,84	0,051				Media (X̄)	1,27	0,790				5-I-T1	6,54	0,12		75		5-II-T1	10,5	0,098		75		5-III-T1	17,3	0,12	75		5-I-T2	3,61	0,106		5-I-T3	6,28	0,102	5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058			Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																													
4-I-T4	1,19	0,043		4-I-T5	0,84	0,051			Media (X̄)	1,27	0,790				5-I-T1	6,54	0,12		75		5-II-T1	10,5	0,098	75			5-III-T1	17,3	0,12	75			5-I-T2	3,61	0,106			5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096	5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																		
4-I-T5	0,84	0,051		Media (X̄)	1,27	0,790			5-I-T1	6,54	0,12	75			5-II-T1	10,5	0,098	75			5-III-T1	17,3	0,12			75	5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102			5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058	Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																						
Media (X̄)	1,27	0,790		5-I-T1	6,54	0,12		75	5-II-T1	10,5	0,098			75	5-III-T1	17,3	0,12			75	5-I-T2	3,61	0,106				5-I-T3	6,28	0,102				5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																									
5-I-T1	6,54	0,12	75	5-II-T1	10,5	0,098	75		5-III-T1	17,3	0,12		75																																																																																																																																																																																								
5-I-T2	3,61	0,106		5-I-T3	6,28	0,102			5-I-T4	3,21	0,096				5-I-T5	3,35	0,058				Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																																														
5-I-T3	6,28	0,102		5-I-T4	3,21	0,096			5-I-T5	3,35	0,058				Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																																																				
5-I-T4	3,21	0,096		5-I-T5	3,35	0,058			Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																																																										
5-I-T5	3,35	0,058		Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																																																															
Media (X̄)	4,60	1,663																																																																																																																																																																																																			

Anexo 8.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0			0	0	0	0	0
5	5	1,644	0,244397	14,866	1,26	1,85	0,59	-1,10414	0,293215
10	5	2,256	0,125817	5,57701	2,12	2,45	0,33	0,836883	0,431606
15	5	4,062	0,683827	16,8347	3,32	4,88	1,56	0,012002	-1,11561
25	5	6,398	0,651245	10,1789	5,43	7,05	1,62	-0,641174	0,00283535
75	5	14,894	3,12543	20,9845	11,57	18,95	7,38	0,436088	-0,968869
Total	30	4,87567	5,13631	105,346	0	18,95	18,95	3,3005	1,6815

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	722,125	5	144,425	80,72	0,0000*
Intra grupos	42,9425	24	1,78927		
Total (Corr.)	765,068	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiple rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	1,644	vXX
10	5	2,256	vXX
15	5	4,062	v XX
25	5	6,398	v X
75	5	14,894	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,644	2,61633
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,256	2,61633
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,062	2,61633
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-6,398	2,61633
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-14,894	2,61633
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,612	2,61633
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,418	2,61633
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,754	2,61633
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-13,25	2,61633
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,806	2,61633
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,142	2,61633
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,638	2,61633
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,336	2,61633
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,832	2,61633
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-8,496	2,61633

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 9.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	0	0
5	5	2,604	0,165469	6,35442	2,35	2,77	0,42	-0,905589	0,206475
10	5	5,068	0,520884	10,2779	4,37	5,75	1,38	-0,033199	-0,0650766
15	5	7,71	0,778042	10,0913	6,8	8,73	1,93	0,247368	-0,670598
25	5	12,104	1,24368	10,2749	10,12	13,56	3,44	-0,926368	1,11821
75	5	33,93	6,54237	19,282	25,25	40,79	15,54	-0,218458	-0,744161
Total	30	10,236	11,7239	114,536	0	40,79	40,79	3,5983	1,84869

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3805,04	5	761,007	100,90	0,0000*
Intra grupos	181,014	24	7,54224		
Total (Corr.)	3986,05	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	2,604	vXX
10	5	5,068	vXX
15	5	7,71	v XX
25	5	12,104	v X
75	5	33,93	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,604	5,37161
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,068	5,37161
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,71	5,37161
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,104	5,37161
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-33,93	5,37161
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,464	5,37161
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,106	5,37161
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-9,5	5,37161
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-31,326	5,37161
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,642	5,37161
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,036	5,37161
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-28,862	5,37161
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,394	5,37161
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-26,22	5,37161
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-21,826	5,37161

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 10.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	0	0
5	5	4,32	0,277489	6,42335	3,9	4,6	0,7	-0,845938	0,0592773
10	5	8,36	0,861974	10,3107	7,2	9,5	2,3	-0,0243737	0,0214721
15	5	12,72	1,28725	10,1199	11,2	14,4	3,2	0,240612	-0,667889
25	5	19,98	2,0584	10,3023	16,7	22,4	5,7	-0,914208	1,11941
75	5	55,98	10,7959	19,2853	41,7	67,3	25,6	-0,208502	-0,758362
Total	30	16,8933	19,3409	114,489	0	67,3	67,3	3,59866	1,85052

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10355,0	5	2071,0	100,81	0,0000*
Intra grupos	493,064	24	20,5443		
Total (Corr.)	10848,1	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	4,32	vXX
10	5	8,36	vXX
15	5	12,72	v XX
25	5	19,98	v X
75	5	55,98	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,32	8,86545
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-8,36	8,86545
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,72	8,86545
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-19,98	8,86545
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-55,98	8,86545
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,04	8,86545
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-8,4	8,86545
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-15,66	8,86545
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-51,66	8,86545
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,36	8,86545
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-11,62	8,86545
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-47,62	8,86545
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-7,26	8,86545
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-43,26	8,86545
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-36,0	8,86545

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 11.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	0	0
5	5	0,352	0,0238747	6,78258	0,32	0,38	0,06	-0,187826	-0,50996
10	5	0,478	0,317364	66,3942	0,18	0,98	0,8	1,05365	0,518892
15	5	0,676	0,59576	88,1302	0,19	1,7	1,51	1,66015	1,62552
25	5	1,266	0,789892	62,3928	0,78	2,65	1,87	1,84946	1,89191
75	5	4,598	1,66288	36,1653	3,21	6,54	3,33	0,537714	-1,46387
Total	30	1,22833	1,74085	141,724	0	6,54	6,54	4,61098	4,21376

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	72,5045	5	14,5009	22,63	0,0000*
Intra grupos	15,3813	24	0,640887		
Total (Corr.)	87,8858	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	0,352	vX
10	5	0,478	vX
15	5	0,676	vX
25	5	1,266	vX
75	5	4,598	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,352	1,56583
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,478	1,56583
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,676	1,56583
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,266	1,56583
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,598	1,56583
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,126	1,56583
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,324	1,56583
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,914	1,56583
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,246	1,56583
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,198	1,56583
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,788	1,56583
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,12	1,56583
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,59	1,56583
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-3,922	1,56583
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-3,332	1,56583

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 12.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	0	0
5	5	0,566	0,0730068	12,8987	0,5	0,68	0,18	1,005	0,327069
10	5	0,956	0,448475	46,9116	0,48	1,57	1,09	0,358405	-0,591042
15	5	1,126	0,811437	72,0637	0,38	2,46	2,08	1,2944	1,01792
25	5	2,6	1,37454	52,8668	1,67	4,92	3,25	1,56298	1,23008
75	5	9,002	2,59255	28,7997	6,86	12,86	6,0	0,930691	-0,354901
Total	30	2,375	3,32272	139,904	0	12,86	12,86	4,31494	3,44177

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	282,272	5	56,4544	35,75	0,0000*
Intra grupos	37,9022	24	1,57926		
Total (Corr.)	320,174	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	0,566	vXX
10	5	0,956	vXX
15	5	1,126	vXX
25	5	2,6	v X
75	5	9,002	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,566	2,458
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,956	2,458
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,126	2,458
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-2,6	2,458
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-9,002	2,458
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,39	2,458
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,56	2,458
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,034	2,458
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-8,436	2,458
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,17	2,458
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,644	2,458
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-8,046	2,458
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,474	2,458
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,876	2,458
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-6,402	2,458

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza

Anexo 13.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	0	0
5	5	0,92	0,130384	14,1722	0,8	1,1	0,3	0,494217	-0,679125
10	5	1,6	0,734847	45,9279	0,8	2,6	1,8	0,322067	-0,589797
15	5	1,86	1,36308	73,2841	0,6	4,1	3,5	1,28982	1,01723
25	5	4,3	2,24611	52,2351	2,8	8,1	5,3	1,57937	1,26892
75	5	14,84	4,27177	28,7855	11,3	21,2	9,9	0,931138	-0,348356
Total	30	3,92	5,47643	139,705	0	21,2	21,2	4,30972	3,43606

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	766,916	5	153,383	35,80	0,0000
Intra grupos	102,832	24	4,28467		
Total (Corr.)	869,748	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiple rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	0,92	vXX
10	5	1,6	vXX
15	5	1,86	vXX
25	5	4,3	v X
75	5	14,84	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,92	4,04868
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,6	4,04868
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,86	4,04868
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-4,3	4,04868
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-14,84	4,04868
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,68	4,04868
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,94	4,04868
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,38	4,04868
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-13,92	4,04868
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-0,26	4,04868
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,7	4,04868
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-13,24	4,04868
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,44	4,04868
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,98	4,04868
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,54	4,04868

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza

Anexo 14.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	1,644	0,244397	14,866	1,26	1,85	0,59	-1,10414	0,293215
5	5	2,604	0,165469	6,35442	2,35	2,77	0,42	-0,905589	0,206475
10	5	4,32	0,277489	6,42335	3,9	4,6	0,7	-0,845938	0,0592773
Total	15	2,856	1,16604	40,8278	1,26	4,6	3,34	0,575996	-1,10514

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	18,3787	2	9,18936	167,99	0,0000*
Intra grupos	0,65644	12	0,0547033		
Total (Corr.)	19,0352	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	1,644	vX	20 días - 40 días	*	-0,96	0,395724
40	5	2,604	v X	20 días - 60 días	*	-2,676	0,395724
60	5	4,32	v X	40 días - 60 días	*	-1,716	0,395724

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza

Anexo 15.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	2,256	0,125817	5,57701	2,12	2,45	0,33	0,836883	0,431606
5	5	5,068	0,520884	10,2779	4,37	5,75	1,38	-0,033199	-0,0650766
10	5	8,36	0,861974	10,3107	7,2	9,5	2,3	-0,0243737	0,0214721
Total	15	5,228	2,63845	50,4676	2,12	9,5	7,38	0,348574	-1,09192

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	93,339	2	46,6695	135,91	0,0000*
Intra grupos	4,1206	12	0,343383		
Total (Corr.)	97,4596	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	2,256	vX	20 días - 40 días	*	-2,812	0,991461
40	5	5,068	v X	20 días - 60 días	*	-6,104	0,991461
60	5	8,36	v X	40 días - 60 días	*	-3,292	0,991461

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 16.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	4,062	0,683827	16,8347	3,32	4,88	1,56	0,012002	-1,11561
5	5	7,71	0,778042	10,0913	6,8	8,73	1,93	0,247368	-0,670598
10	5	12,72	1,28725	10,1199	11,2	14,4	3,2	0,240612	-0,667889
Total	15	8,164	3,7784	46,2812	3,32	14,4	11,08	0,466766	-1,0069

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	188,948	2	94,4741	103,82	0,0000*
Intra grupos	10,9199	12	0,90999		
Total (Corr.)	199,868	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiple rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	4,062	vX	20 días - 40 días	*	-3,648	1,614
40	5	7,71	v X	20 días - 60 días	*	-8,658	1,614
60	5	12,72	v X	40 días - 60 días	*	-5,01	1,614

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 17.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	6,398	0,651245	10,1789	5,43	7,05	1,62	-0,641174	0,00283535
5	5	12,104	1,24368	10,2749	10,12	13,56	3,44	-0,926368	1,11821
10	5	19,98	2,0584	10,3023	16,7	22,4	5,7	-0,914208	1,11941
Total	15	12,8273	5,91567	46,1177	5,43	22,4	16,97	0,497516	-1,07361

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	465,101	2	232,55	112,38	0,0000
Intra grupos	24,8314	12	2,06928		
Total (Corr.)	489,932	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $25 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	6,398	vX	20 días - 40 días	*	-5,706	2,43386
40	5	12,104	v X	20 días - 60 días	*	-13,582	2,43386
60	5	19,98	v X	40 días - 60 días	*	-7,876	2,43386

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 18.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	14,894	3,12543	20,9845	11,57	18,95	7,38	0,436088	-0,968869
5	5	33,93	6,54237	19,282	25,25	40,79	15,54	-0,218458	-0,744161
10	5	55,98	10,7959	19,2853	41,7	67,3	25,6	-0,208502	-0,758362
Total	15	34,9347	18,7163	53,5752	11,57	67,3	55,73	0,638211	-0,756863

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4227,72	2	2113,86	37,50	0,0000
Intra grupos	676,492	12	56,3743		
Total (Corr.)	4904,21	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar las raíces de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $75 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	14,894	vX	20 días - 40 días	*	-19,036	12,7036
40	5	33,93	v X	20 días - 60 días	*	-41,086	12,7036
60	5	55,98	v X	40 días - 60 días	*	-22,05	12,7036

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 19.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0,352	0,0238747	6,78258	0,32	0,38	0,06	-0,187826	-0,50996
5	5	0,566	0,0730068	12,8987	0,5	0,68	0,18	1,005	0,327069
10	5	0,92	0,130384	14,1722	0,8	1,1	0,3	0,494217	-0,679125
Total	15	0,612667	0,25558	41,7159	0,32	1,1	0,78	0,920351	-0,688815

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,822893	2	0,411447	53,90	0,0000*
Intra grupos	0,0916	12	0,00763333		
Total (Corr.)	0,914493	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	0,352	vX	20 días - 40 días	*	-0,214	0,147823
40	5	0,566	v X	20 días - 60 días	*	-0,568	0,147823
60	5	0,92	v X	40 días - 60 días	*	-0,354	0,147823

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 20.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0,478	0,317364	66,3942%	0,18	0,98	0,8	1,05365	0,518892
5	5	0,956	0,448475	46,9116%	0,48	1,57	1,09	0,358405	-0,591042
10	5	1,6	0,734847	45,9279%	0,8	2,6	1,8	0,322067	-0,589797
Total	15	1,01133	0,683352	67,5694%	0,18	2,6	2,42	1,55448	0,461467

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,17017	2	1,58509	5,65	0,0187*
Intra grupos	3,3674	12	0,280617		
Total (Corr.)	6,53757	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	0,478	vX	20 días - 40 días		-0,478	0,896278
40	5	0,956	vXX	20 días - 60 días	*	-1,122	0,896278
60	5	1,6	v X	40 días - 60 días		-0,644	0,896278

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 21.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0,676	0,59576	88,1302	0,19	1,7	1,51	1,66015	1,62552
5	5	1,126	0,811437	72,0637	0,38	2,46	2,08	1,2944	1,01792
10	5	1,86	1,36308	73,2841	0,6	4,1	3,5	1,28982	1,01723
Total	15	1,22067	1,03707	84,9596	0,19	4,1	3,91	2,68836	2,60764

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,57185	2	1,78593	1,87	0,1970*
Intra grupos	11,4854	12	0,95712		
Total (Corr.)	15,0573	14			

Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	0,676	vX	20 días - 40 días		-0,45	1,65527
40	5	1,126	vX	20 días - 60 días		-1,184	1,65527
60	5	1,86	vX	40 días - 60 días		-0,734	1,65527

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 22.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	1,266	0,789892	62,3928	0,78	2,65	1,87	1,84946	1,89191
5	5	2,6	1,37454	52,8668	1,67	4,92	3,25	1,56298	1,23008
10	5	4,3	2,24611	52,2351	2,8	8,1	5,3	1,57937	1,26892
Total	15	2,722	1,95224	71,721	0,78	8,1	7,32	2,56037	2,51681

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	23,1245	2	11,5623	4,59	0,0331*
Intra grupos	30,2331	12	2,51943		
Total (Corr.)	53,3576	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	1,266	vX	20 días - 40 días		-1,334	2,68557
40	5	2,6	vXX	20 días - 60 días	*	-3,034	2,68557
60	5	4,3	v X	40 días - 60 días		-1,7	2,68557

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 23.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	4,598	1,66288	36,1653	3,21	6,54	3,33	0,537714	-1,46387
5	5	9,002	2,59255	28,7997	6,86	12,86	6,0	0,930691	-0,354901
10	5	14,84	4,27177	28,7855	11,3	21,2	9,9	0,931138	-0,348356
Total	15	9,48	5,17479	54,5864	3,21	21,2	17,99	1,31726	0,323872

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	263,96	2	131,98	14,28	0,0007*
Intra grupos	110,938	12	9,24483		
Total (Corr.)	374,898	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al analizar los tallos-hojas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	4,598	vX	20 días - 40 días		-4,404	5,14441
40	5	9,002	vX	20 días - 60 días	*	-10,242	5,14441
60	5	14,84	v X	40 días - 60 días	*	-5,838	5,14441

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 24.

Cinética de bioacumulación de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* ($\mu\text{g g}^{-1}$ HgT).

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Raíces			Tallos-hojas		
	20 días	20-40 días	40-60 días	20 días	20-40 días	40-60 días
5	1,644 ± 0,109	0,961±0,060	1,716±0,050	0,352±0,100	0,214±0,024	0,354±0,026
10	2,256±0,056	2,812±0,186	3,292±0,152	0,478±0,141	0,478±0,068	0,644±0,128
15	4,062±0,305	3,648±0,0,074	5,010±0,228	0,676±0,266	0,450±0,106	0,734±0,246
25	6,398±0,291	5,706±0,320	7,876±0,364	1,266±0,353	1,334±0,269	1,700±0,389
75	14,894±1,398	19,036±1,605	22,050±1,902	4,698±0,743	4,404±0,547	5,838±0,751

Anexo 25.

Capacidad acumuladora de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* en porcentajes (%).

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Raíces			Tallos-hojas		
	20 días	40 días	60 días	20 días	40 días	60 días
5	32,8	52,0	86,4	7,0	11,4	18,4
10	22,6	50,7	83,6	4,8	9,6	16,0
15	27,1	51,4	83,3	4,5	7,5	12,4
25	25,6	48,4	79,9	5,1	10,4	17,2
75	19,9	45,2	74,6	6,1	12,0	19,8

Anexo 26.

Coefficiente de absorción biológica de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Raíces			Tallos-hojas		
	20 días	40 días	60 días	20 días	40 días	60 días
5	0,328	0,520	0,864	0,070	0,114	0,184
10	0,226	0,507	0,836	0,048	0,096	0,160
15	0,271	0,514	0,833	0,045	0,075	0,124
25	0,256	0,484	0,799	0,051	0,104	0,172
75	0,199	0,452	0,746	0,061	0,120	0,198

Anexo 27.

Coefficiente de bioacumulación de HgT en *Gynerium sagittatum (aubl) beauv*

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Raíces			Tallos-hojas		
	20 días	40 días	60 días	20 días	40 días	60 días
5	0,08	0,07	0,07	0,02	0,01	0,02
10	0,11	0,13	0,14	0,02	0,02	0,03
15	0,20	0,19	0,21	0,03	0,03	0,03
25	0,32	0,30	0,33	0,06	0,07	0,07
75	0,74	0,85	0,93	0,23	0,23	0,25

Anexo 28.

Fitotoxicidad en las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días expresada en porcentaje (%) de clorosis.

20 días			40 días			60 días		
Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]
0-I-P1	0	0	0-II-P1	0	0	0-III-P1	0	0
0-I-P2	0		0-II-P2	0		0-III-P2	0	
0-I-P3	0		0-II-P3	0		0-III-P3	0	
0-I-P4	0		0-II-P4	0		0-III-P4	0	
0-I-P5	0		0-II-P5	0		0-III-P5	0	
Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	0,00	
1-I-P1	0	5	1-II-P1	0	5	1-III-P1	0	5
1-I-P2	0		1-II-P2	5		1-III-P2	10	
1-I-P3	0		1-II-P3	0		1-III-P3	5	
1-I-P4	0		1-II-P4	0		1-III-P4	5	
1-I-P5	0		1-II-P5	0		1-III-P5	5	
Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	1,00		Media (\bar{x})	5,00	
2-I-P1	5	10	2-II-P1	10	10	2-III-P1	10	10
2-I-P2	0		2-II-P2	5		2-III-P2	5	
2-I-P3	5		2-II-P3	5		2-III-P3	10	
2-I-P4	0		2-II-P4	5		2-III-P4	10	
2-I-P5	0		2-II-P5	0		2-III-P5	5	
Media (\bar{x})	2,00		Media (\bar{x})	5,00		Media (\bar{x})	8,00	
3-I-P1	5	15	3-II-P1	10	15	3-III-P1	10	15
3-I-P2	5		3-II-P2	5		3-III-P2	10	
3-I-P3	0		3-II-P3	10		3-III-P3	10	
3-I-P4	0		3-II-P4	5		3-III-P4	15	
3-I-P5	5		3-II-P5	5		3-III-P5	15	
Media (\bar{x})	3,00		Media (\bar{x})	7,00		Media (\bar{x})	12,00	
4-I-P1	10	25	4-II-P1	10	25	4-III-P1	20	25
4-I-P2	5		4-II-P2	10		4-III-P2	15	
4-I-P3	0		4-II-P3	15		4-III-P3	20	
4-I-P4	5		4-II-P4	15		4-III-P4	20	
4-I-P5	5		4-II-P5	10		4-III-P5	20	
Media (\bar{x})	5,00		Media (\bar{x})	12,00		Media (\bar{x})	19,00	
5-I-P1	10	75	5-II-P1	20	75	5-III-P1	30	75
5-I-P2	5		5-II-P2	25		5-III-P2	35	
5-I-P3	5		5-II-P3	20		5-III-P3	35	
5-I-P4	10		5-II-P4	25		5-III-P4	30	
5-I-P5	5		5-II-P5	20		5-III-P5	35	
Media (\bar{x})	7,00		Media (\bar{x})	22,00		Media (\bar{x})	33,00	

Anexo 29.

Fitotoxicidad en las plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg durante 20, 40 y 60 días expresada en porcentaje (%) de necrosis.

20 días			40 días			60 días		
Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Muestra	Porcentaje (%)	[$\mu\text{g g}^{-1}$]
0-I-P1	0	0	0-II-P1	0	0	0-III-P1	0	0
0-I-P2	0		0-II-P2	0		0-III-P2	0	
0-I-P3	0		0-II-P3	0		0-III-P3	0	
0-I-P4	0		0-II-P4	0		0-III-P4	0	
0-I-P5	0		0-II-P5	0		0-III-P5	0	
Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	0,00	
1-I-P1	0	5	1-II-P1	0	5	1-III-P1	5	5
1-I-P2	0		1-II-P2	0		1-III-P2	5	
1-I-P3	0		1-II-P3	5		1-III-P3	5	
1-I-P4	0		1-II-P4	0		1-III-P4	0	
1-I-P5	0		1-II-P5	0		1-III-P5	0	
Media (\bar{x})	0,00		Media (\bar{x})	1,00		Media (\bar{x})	3,00	
2-I-P1	0	10	2-II-P1	5	10	2-III-P1	5	10
2-I-P2	0		2-II-P2	5		2-III-P2	5	
2-I-P3	0		2-II-P3	0		2-III-P3	5	
2-I-P4	5		2-II-P4	5		2-III-P4	10	
2-I-P5	0		2-II-P5	0		2-III-P5	5	
Media (\bar{x})	1,00		Media (\bar{x})	3,00		Media (\bar{x})	6,00	
3-I-P1	5	15	3-II-P1	10	15	3-III-P1	10	15
3-I-P2	0		3-II-P2	5		3-III-P2	5	
3-I-P3	0		3-II-P3	0		3-III-P3	10	
3-I-P4	5		3-II-P4	5		3-III-P4	10	
3-I-P5	0		3-II-P5	5		3-III-P5	15	
Media (\bar{x})	2,00		Media (\bar{x})	5,00		Media (\bar{x})	10,00	
4-I-P1	0	25	4-II-P1	10	25	4-III-P1	15	25
4-I-P2	5		4-II-P2	15		4-III-P2	10	
4-I-P3	5		4-II-P3	10		4-III-P3	15	
4-I-P4	0		4-II-P4	5		4-III-P4	20	
4-I-P5	5		4-II-P5	10		4-III-P5	15	
Media (\bar{x})	3,00		Media (\bar{x})	10,00		Media (\bar{x})	15,00	
5-I-P1	5	75	5-II-P1	10	75	5-III-P1	30	75
5-I-P2	0		5-II-P2	15		5-III-P2	25	
5-I-P3	10		5-II-P3	20		5-III-P3	25	
5-I-P4	5		5-II-P4	15		5-III-P4	25	
5-I-P5	5		5-II-P5	15		5-III-P5	20	
Media (\bar{x})	5,00		Media (\bar{x})	15,00		Media (\bar{x})	25,00	

Anexo 30.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtois Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	0	0		0	0	0		
10	5	2,0	2,73861	136,931	0	5,0	5,0	0,555556	-1,52145
15	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
25	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
75	5	7,0	2,73861	39,123	5,0	10,0	5,0	0,555556	-1,52145
Total	30	2,83333	3,39455	119,808	0	10,0	10,0	1,79993	-0,449644

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	194,167	5	38,8333	6,66	0,0005*
Intra grupos	140,0	24	5,83333		
Total (Corr.)	334,167	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	0	vX
10	5	2,0	vXX
15	5	3,0	vXXX
25	5	5,0	v XX
75	5	7,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		0	4,72403
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,72403
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,72403
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-5,0	4,72403
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	4,72403
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,72403
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,72403
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-5,0	4,72403
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	4,72403
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	4,72403
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,72403
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-5,0	4,72403
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,72403
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	4,72403
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,72403

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 31.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
10	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
15	5	7,0	2,73861	39,123	5,0	10,0	5,0	0,555556	-1,52145
25	5	12,0	2,73861	22,8218	10,0	15,0	5,0	0,555556	-1,52145
75	5	22,0	2,73861	12,4482	20,0	25,0	5,0	0,555556	-1,52145
Total	30	7,83333	7,95281	101,525	0	25,0	25,0	1,86453	-0,376723

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1674,17	5	334,833	50,23	0,0000*
Intra grupos	160,0	24	6,66667		
Total (Corr.)	1834,17	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	1,0	vX
10	5	5,0	vXX
15	5	7,0	v XX
25	5	12,0	v X
75	5	22,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-22,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-6,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-11,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-21,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-17,0	5,05021
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,05021
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-15,0	5,05021
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,0	5,05021

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 32.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtois Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
10	5	8,0	2,73861	34,2327	5,0	10,0	5,0	-0,555556	-1,52145
15	5	12,0	2,73861	22,8218	10,0	15,0	5,0	0,555556	-1,52145
25	5	19,0	2,23607	11,7688	15,0	20,0	5,0	-2,04124	2,28218
75	5	33,0	2,73861	8,29883	30,0	35,0	5,0	-0,555556	-1,52145
Total	30	12,8333	11,1945	87,2296	0	35,0	35,0	1,71088	-0,43751

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3474,17	5	694,833	104,22	0,0000*
Intra grupos	160,0	24	6,66667		
Total (Corr.)	3634,17	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	5,0	vXX
10	5	8,0	v XX
15	5	12,0	v X
25	5	19,0	v X
75	5	33,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-8,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-19,0	5,05021
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-33,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-14,0	5,05021
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-28,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-11,0	5,05021
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-25,0	5,05021
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,05021
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-21,0	5,05021
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-14,0	5,05021

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 33.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	0	0		0	0	0		
10	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
15	5	2,0	2,73861	136,931	0	5,0	5,0	0,555556	-1,52145
25	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
75	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
Total	30	1,83333	2,78027	151,651	0	10,0	10,0	2,71861	0,697073

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	94,1667	5	18,8333	3,48	0,0167
Intra grupos	130,0	24	5,41667		
Total (Corr.)	224,167	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestos a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 20 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	0	vX
10	5	1,0	vXX
15	5	2,0	vXX
25	5	3,0	vXX
75	5	5,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		0	4,55219
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	4,55219
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,55219
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,55219
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-5,0	4,55219
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	4,55219
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,55219
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,55219
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-5,0	4,55219
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	4,55219
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,55219
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	4,55219
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	4,55219
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	4,55219
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	4,55219

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 34.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
10	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
15	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
25	5	10,0	3,53553	35,3553	5,0	15,0	10,0	0	0,912871
75	5	15,0	3,53553	23,5702	10,0	20,0	10,0	0	0,912871
Total	30	5,66667	5,97889	105,51	0	20,0	20,0	1,70762	-0,513488

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	836,667	5	167,333	20,08	0,0000*
Intra grupos	200,0	24	8,33333		
Total (Corr.)	1036,67	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 40 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	1,0	vX
10	5	3,0	vX
15	5	5,0	vXX
25	5	10,0	v XX
75	5	15,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-1,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-15,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-9,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-14,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-2,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,0	5,6463
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,6463
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,0	5,6463
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,6463

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 35

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0	-0,555556	-1,52145
5	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
10	5	6,0	2,23607	37,2678	5,0	10,0	5,0	0	0,912871
15	5	10,0	3,53553	35,3553	5,0	15,0	10,0	0	0,912871
25	5	15,0	3,53553	23,5702	10,0	20,0	10,0	0	0,912871
75	5	25,0	3,53553	14,1421	20,0	30,0	10,0	1,6372	-0,506265
Total	30	9,83333	8,85548	90,0557	0	30,0	30,0	-0,555556	-1,52145

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2074,17	5	414,833	49,78	0,0000*
Intra grupos	200,0	24	8,33333		
Total (Corr.)	2274,17	29			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a soluciones de diferentes concentraciones de Hg por 60 días.

[$\mu\text{g g}^{-1}$]	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	5	0	vX
5	5	3,0	vXX
10	5	6,0	v XX
15	5	10,0	v XX
25	5	15,0	v X
75	5	25,0	v X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 5 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-6,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-15,0	5,6463
0 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-25,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 10 $\mu\text{g g}^{-1}$		-3,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-7,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-12,0	5,6463
5 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-22,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 15 $\mu\text{g g}^{-1}$		-4,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-9,0	5,6463
10 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-19,0	5,6463
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 25 $\mu\text{g g}^{-1}$		-5,0	5,6463
15 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-15,0	5,6463
25 $\mu\text{g g}^{-1}$ - 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	*	-10,0	5,6463

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 36.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
10	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
Total	15	2,0	3,16228	158,114	0	10,0	10,0	2,22527	0,999071

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	70,0	2	35,0	6,00	0,0156*
Intra grupos	70,0	12	5,83333		
Total (Corr.)	140,0	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	0	vX	20 días - 40 días		-1,0	4,08643
40	5	1,0	vXX	20 días - 60 días	*	-5,0	4,08643
60	5	5,0	v X	40 días - 60 días		-4,0	4,08643

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 37.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	2,0	2,73861	136,931	0	5,0	5,0	0,555556	-1,52145
5	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
10	5	8,0	2,73861	34,2327	5,0	10,0	5,0	-0,555556	-1,52145
Total	15	5,0	3,77964	75,5929	0	10,0	10,0	0	-0,851382

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	90,0	2	45,0	4,91	0,0277*
Intra grupos	110,0	12	9,16667		
Total (Corr.)	200,0	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	2,0	vX	20 días - 40 días		-3,0	5,12261
40	5	5,0	vXX	20 días - 60 días	*	-6,0	5,12261
60	5	8,0	v X	40 días - 60 días		-3,0	5,12261

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 38.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 15 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
5	5	7,0	2,73861	39,123	5,0	10,0	5,0	0,555556	-1,52145
10	5	12,0	2,73861	22,8218	10,0	15,0	5,0	0,555556	-1,52145
Total	15	7,33333	4,57738	62,4188	0	15,0	15,0	0,178147	-0,382594

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 15 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	203,333	2	101,667	13,56	0,0008
Intra grupos	90,0	12	7,5		
Total (Corr.)	293,333	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 15 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	3,0	vX	20 días - 40 días		-4,0	4,63358
40	5	7,0	vX	20 días - 60 días	*	-9,0	4,63358
60	5	12,0	v X	40 días - 60 días	*	-5,0	4,63358

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 39.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
5	5	12,0	2,73861	22,8218	10,0	15,0	5,0	0,555556	-1,52145
10	5	19,0	2,23607	11,7688	15,0	20,0	5,0	-2,04124	2,28218
Total	15	12,0	6,49175	54,0979	0	20,0	20,0	-0,314375	-0,796719

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	490,0	2	245,0	29,40	0,0000*
Intra grupos	100,0	12	8,33333		
Total (Corr.)	590,0	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	5,0	vX	20 días - 40 días	*	-7,0	4,88422
40	5	12,0	v X	20 días - 60 días	*	-14,0	4,88422
60	5	19,0	v X	40 días - 60 días	*	-7,0	4,88422

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 40.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	7,0	2,73861	39,123	5,0	10,0	5,0	0,555556	-1,52145
5	5	22,0	2,73861	12,4482	20,0	25,0	5,0	0,555556	-1,52145
10	5	33,0	2,73861	8,29883	30,0	35,0	5,0	-0,555556	-1,52145
Total	15	20,6667	11,3179	54,7641	5,0	35,0	30,0	-0,300318	-1,13137

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1703,33	2	851,667	113,56	0,0000*
Intra grupos	90,0	12	7,5		
Total (Corr.)	1793,33	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como clorosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	7,0	vX	20 días - 40 días	*	-15,0	4,63358
40	5	22,0	v X	20 días - 60 días	*	-26,0	4,63358
60	5	33,0	v X	40 días - 60 días	*	-11,0	4,63358

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 41.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 5 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	0	0		0	0	0		
5	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
10	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
Total	15	1,33333	2,28869	171,652	0	5,0	5,0	1,85998	-0,580488

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 5 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	23,3333	2	11,6667	2,80	0,1005*
Intra grupos	50,0	12	4,16667		
Total (Corr.)	73,3333	14			

* Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 5 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	0	vX	20 días - 40 días		-1,0	3,45366
40	5	1,0	vX	20 días - 60 días		-3,0	3,45366
60	5	3,0	vX	40 días - 60 días		-2,0	3,45366

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 42.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	1,0	2,23607	223,607	0	5,0	5,0	2,04124	2,28218
5	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
10	5	6,0	2,23607	37,2678	5,0	10,0	5,0	2,04124	2,28218
Total	15	3,33333	3,08607	92,582	0	10,0	10,0	0,492642	-0,319268

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	63,3333	2	31,6667	5,43	0,0209*
Intra grupos	70,0	12	5,83333		
Total (Corr.)	133,333	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	1,0	vX	20 días - 40 días		-2,0	4,08643
40	5	3,0	vXX	20 días - 60 días	*	-5,0	4,08643
60	5	6,0	v X	40 días - 60 días		-3,0	4,08643

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 43.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	2,0	2,73861	136,931	0	5,0	5,0	0,555556	-1,52145
5	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
10	5	10,0	3,53553	35,3553	5,0	15,0	10,0	0	0,912871
Total	15	5,66667	4,57738	80,7772	0	15,0	15,0	0,555578	-0,382594

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	163,333	2	81,6667	7,54	0,0076*
Intra grupos	130,0	12	10,8333		
Total (Corr.)	293,333	14			

* Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	2,0	vX	20 días - 40 días		-3,0	5,56887
40	5	5,0	vXX	20 días - 60 días	*	-8,0	5,56887
60	5	10,0	v X	40 días - 60 días		-5,0	5,56887

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 44.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	3,0	2,73861	91,2871	0	5,0	5,0	-0,555556	-1,52145
5	5	10,0	3,53553	35,3553	5,0	15,0	10,0	0	0,912871
10	5	15,0	3,53553	23,5702	10,0	20,0	10,0	0	0,912871
Total	15	9,33333	5,93617	63,6018	0	20,0	20,0	-0,00553756	-0,62501

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	363,333	2	181,667	16,77	0,0003*
Intra grupos	130,0	12	10,8333		
Total (Corr.)	493,333	14			

* Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 25 µg g⁻¹ Hg durante 20,40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	3,0	vX	20 días - 40 días	*	-7,0	5,56887
40	5	10,0	v X	20 días - 60 días	*	-12,0	5,56887
60	5	15,0	v X	40 días - 60 días		-5,0	5,56887

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 45.

Resumen estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
0	5	5,0	3,53553	70,7107	0	10,0	10,0	0	0,912871
5	5	15,0	3,53553	23,5702	10,0	20,0	10,0	0	0,912871
10	5	25,0	3,53553	14,1421	20,0	30,0	10,0	0	0,912871
Total	15	15,0	9,06327	60,4218	0	30,0	30,0	0	0,912871

Análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas de *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1000,0	2	500,0	40,00	0,0000*
Intra grupos	150,0	12	12,5		
Total (Corr.)	1150,0	14			

* Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza.

Prueba de múltiples rangos de Tukey HSD a los resultados obtenidos al realizar la evaluación de fitotoxicidad expresada como necrosis en plantas *Gynerium sagittatum (aubl) beauv* expuestas a una solución de 75 µg g⁻¹ Hg durante 20, 40 y 60 días.

Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
20	5	5,0	vX	20 días - 40 días	*	-10,0	5,98192
40	5	15,0	v X	20 días - 60 días	*	-20,0	5,98192
60	5	25,0	v X	40 días - 60 días	*	-10,0	5,98192

* indica una diferencia significativa con un nivel del 95,0% de confianza.

Anexo 46.

Fitotoxicidad del Hg en las plantas de *Gynerium sagittatum* (aubl) Beauv, muerte descendente de las hojas desde el ápice hasta la base de las hojas.

