

ARTICULO ORIGINAL

EFFECTO DEL PLOMO EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. "espino" EN CONDICIONES DE LABORATORIO **EFFECT OF LEAD ON SEEDLING GROWTH OF *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. "HAWTHORN" UNDER LABORATORY CONDITIONS**

Mirtha Julia Blaz-Aponte* & Marlene Rodríguez-Espejo
Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú
*mirthablaz@hotmail.com**

RESUMEN

El Perú posee una gran variedad de especies vegetales adaptadas para vivir en suelos contaminados con altas concentraciones de metales pesados sin alterar su fisiología y crecimiento. Por ello el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del plomo en el crecimiento de plántulas de *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. "espino" en condiciones de laboratorio. Se utilizó un diseño experimental de estímulo creciente con cinco tratamientos y tres repeticiones, utilizando 30 plántulas para cada tratamiento (0, 50, 100, 200 y 400 mg Pb/L), en un sistema hidropónico. Los resultados, a los 45 días, indican que el plomo causó efecto en 400 mgPb/L, así mismo se observó una serie de alteraciones morfológicas (clorosis, necrosis) y mayor cantidad de bioacumulación de plomo se encontró en parte aérea (3.904 mgPb/g.).

Palabras claves: *Acacia macracantha*; plántulas; plomo; crecimiento.

ABSTRACT

Peru has a wide variety of plant species adapted to live in contaminated with high concentrations of heavy metals without altering their physiology and growth soils. The aim of this study was to determine the effect of lead on the growth of seedlings of *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. "hawthorn" in laboratory conditions. Increasing stimulus experimental design was used with 5 treatments and three replications, 30 seedlings placed in each container, at concentrations of 0, 50, 100, 200 and 400 mgPb / L in a hydroponic system. The results were taken at 45 days, the results indicate that lead caused impact on the T5, in root length 9.06 cm, stem length 9.55 cm, number of secondary roots 10, sheets 11, fresh weight (0.06 g) and dry (0.04 g) of root fresh weight (1.19 g) and dry (0.21g) of aerial part (leaves and stems), protein content: Following 3,025 mg/g, leaves 3,269 mg/g stalk 5,092 mg/g, chlorophyll a 2.33 mg/ml and carotenes 0.36 ug/ml, also present a series of morphological changes (chlorosis, necrosis). Most bioaccumulation of lead was found in aerial parts of T5, the value of 3,904 mgPb / g.

Keywords: *Acacia macracantha*; seedlings; lead; growth.

Recibido: 10 Julio 2017.

Aceptado: 20 Setiembre 2017.

Publicado online: 30 Diciembre 2017

INTRODUCCION

Muchas actividades industriales como la minería, agropecuaria, artesanal y doméstica, eliminan al medio ambiente grandes cantidades de desechos que son nocivos para los seres vivos, debido a que no pueden ser degradados natural o biológicamente ya que no poseen funciones metabólicas específicas, acumulándose y permaneciendo en el medio, filtrándose a los sistemas de agua y suelo, siendo este último el más afectado debido a que los contaminantes pueden permanecer durante mucho tiempo, incorporándose luego a la cadena trófica a través de las plantas que los acumulan en sus órganos (Abollino *et al.*, 2002; Prieto *et al.*, 2007).

El mercurio (Hg) y el plomo (Pb) son metales, considerados de mayor riesgo debido a que atentan contra la salud del ser humano. El plomo (Pb) ha adquirido mucha importancia debido a su alta toxicidad en el ser humano, este metal es utilizado como aditivo de combustibles y pinturas, empleado en la fabricación de cañerías de agua, en juguetes, en baterías, en artículos cerámicos, se emplea como protector de radiaciones ionizantes, para recubrir hilos metálicos, en la elaboración de insecticidas, su uso en la fundición de metales ha llevado que este metal se acumule en las capas superficiales del suelo, siendo así que las plantas son las primeras expuestas a este metal (Ramos, 2001; Lassat, 2002; Rubio *et al.*, 2004; Flores *et al.*, 1995). Su presencia está ligado a la materia orgánica de las plantas, al material coloidal del suelo, a los óxidos de hierro y manganeso y a estructuras minerales, su absorción en el suelo se incrementa en función del pH, que va desde 3.0 hasta 8.5. (Martin, 2000; Reigosa *et al.*, 2004; Salas, 2007).

Las altas concentraciones de plomo alteran procesos bioquímicos y fisiológicos propios de las plantas, dañan las membranas de las células, reduce la transpiración, impide la síntesis de proteínas, daña e inhibe la fotosíntesis, altera la actividad de varias enzimas, causando un daño irreparable a la raíz y el crecimiento de la planta. La mayor concentración de plomo captado por las plantas permanece en la raíz, esta zona constituye la entrada principal del plomo en plantas superiores; estos cationes entran por la pared celular y es transportado radialmente por vía apoplástica o vía simplástica, a través del córtex y se acumula cerca de la endodermis. Los metales viajan desde la raíz hasta el xilema y de allí se distribuyen a toda la planta (Atici *et al.*, 2003; Talanova *et al.*, 2000).

Se han reportado más de 400 especies de plantas de las familias Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae y Euphobiaceae, las que han mostrado capacidades de acumular metales pesados en cantidades superiores a 1000 ppm, además de poseer mecanismos adicionales de desintoxicación (Freitas & Prasad, 2003; Sierra, 2006).

En las Asteráceas se han realizado estudios de tolerancia al plomo en *Sonchus oleraceus* y para cadmio, zinc y plomo en *Helianthus annuus*; en Brassicaceas encontramos a *Thlaspi caurulences* que presenta resistencia a zinc y cadmio, en *Thlaspi rotundifolium* presenta una alta acumulación de plomo en su parte aérea más que en la raíz, en *Arabidopsis thaliana* presenta resistencia a níquel, zinc y plomo; en *Allium cepa* se demostró que el plomo reduce el crecimiento radicular y la frecuencia de las células mitóticas, en *Raphanus sativus*, *Brassica juncea*, *Triticum aestivum* presentan resistencia a cobre, en *Asphodelus fistulosus* se obtuvo resultados favorables en su bioacumulación para plomo y cadmio, en *Pteris vittata* para arsénico, en *Aeolanthus biformifolius* para cobre y en *Uncinia leptostachya* para uranio (Sierra, 2006; Vargas, 2007; Prieto *et al.*, 2009).

Acacia macracantha (Fabaceae) H. & B. ex Will. conocida con el nombre vulgar “espino”, crece por toda la franja de la costa peruana, desde el nivel de mar hasta los 2200 m.s.n.m., se encuentra en zonas desérticas, quebradas, montes ribereños, valles, pie de montes y laderas, es una especie que resiste periodos largos de sequías. La importancia de esta especie son sus frutos y hojas debido a que sirven de alimento al ganado vacuno, caprino, equino y ovinos, otra importancia es que sus flores son utilizadas en la apicultura para la producción de miel, también es utilizada en cercos vivos y su madera es empleada para leña y carbón, esta especie florece en los meses de Octubre y sus frutos maduran en Febrero (Mostacero *et al.*, 2009).

Se han reportado estudios realizados con especies de la familia Fabaceae en la bioacumulación con metales pesados así tenemos a *Casuarina equisetifolia* Forst y *Acacia mangium* Will. En suelos explotados por la minería se observó un mejoramiento en la calidad del suelo explotado en República Dominicana, otros estudios han reportado a *Prosopis laevigata*, *Acacia ssp.* y *Schinus molle* que resultaron ser buenos bioacumuladores cuando se excede la concentración de metales tóxicos existentes en suelos contaminados en la ciudad de México, también se ha reportado a la especie *Astragalus mollisimus*, *Astragalus nuttallianus* que toleran

muy bien el plomo en estudios realizados en Chihuahua, México (Pérez *et al.*, 2012; Alcalá *et al.*, 2013; Lerma, 2006).

Teniendo como antecedentes a especies de la familia Fabaceae que han sido estudiadas en la bioacumulación con metales pesados, entonces hay razones suficientes para desarrollar la presente investigación que tuvo como objetivo evaluar el efecto del plomo en el crecimiento de plántulas de *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. “espino” en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y METODOS

Material Biológico

Las semillas de *Acacia macracantha* Humb. & Bonpl. ex Willd. (Fabaceae) “espino” se obtuvo de los árboles localizados a los bordes de la acequia Chiquitoy (69 m.s.n.m. y a 7°53’45.56” Sur y 79°11’03.10” Oeste), perteneciente al distrito de Santiago de Cao, provincia de Ascope, departamento de La Libertad.

Germinación de semillas y adaptación de plántulas en un sistema hidropónico

Se seleccionaron 1000 semillas libres de impactos mecánicos y deterioradas por insectos, se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% por 20 minutos, se enjuagó con agua destilada tres veces consecutivas. Se acondicionaron en bandejas cubiertas con papel toalla humedecido con agua destilada colocando las semillas para su germinación. A los 15 días de germinación se seleccionaron 30 plántulas para cada tratamiento teniendo en cuenta que todas presenten la primera hoja verdadera y un tamaño de 5 cm aproximadamente, luego se transfirió a un medio hidropónico, por 3 días para su adaptación, que consistió en bandejas de plástico de 4 litros de capacidad conteniendo agua destilada y solución nutritiva La Molina[®], siendo suspendidos en agujeros de tecnopor de 0.5 cm de diámetro y sostenidas con esponja, con un pH de 6.5, luego se colocó bombas de acuario para su oxigenación. Se reguló el fotoperiodo de 12:12 con dos fluorescentes de 40 watts y 2 timer marca House Safe.

Instalación del diseño y tratamiento

Posteriormente al periodo de adaptación se utilizó el diseño experimental estímulo creciente con 5 tratamientos y 3 repeticiones (cada tratamiento con 30 plántulas). Las plántulas fueron sometidas a los diferentes tratamientos con soluciones de plomo durante 30 días, como se indica a continuación:

| | |
|----------------|--------------------|
| 0 mg/L | Tratamiento 1 (T1) |
| 50 mg/L | Tratamiento 2 (T2) |
| 100 mg/L | Tratamiento 3 (T3) |
| 200 mg/L | Tratamiento 4 (T4) |
| 400 mg/L | Tratamiento 5 (T5) |

Evaluación del crecimiento

La evaluación del crecimiento de las plántulas se realizó a los 45 días de exposición en los diferentes tratamientos, teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

1. Medición de la longitud de tallo y raíz

Con la ayuda de una regla milimetrada se tomaron los datos de largo de raíz principal teniendo como referencia el cuello del tallo hasta el ápice de la raíz principal y el largo de tallo desde el cuello de tallo hasta la yema apical del tallo. Se contabilizó la cantidad de raíces secundarias que presentaba cada raíz principal en su respectivo tratamiento y repetición, además de la cantidad de hojas, a los 45 días de exposición.

2. Determinación de la biomasa (peso fresco y peso seco) de raíz y parte aérea (hojas y tallo)

Se determinó la biomasa de raíz y parte aérea (tallo y hojas) a través del peso fresco de 6 plántulas obtenidas por cada repetición de cada tratamiento a los 45 días de haber sido expuestos al plomo, luego fueron llevados por separado raíz y parte aérea a la estufa por 48 horas a 80°C para determinar el peso seco, ambos se pesaron en una balanza analítica.

3. Determinación del contenido de proteínas

Para la cuantificación de proteínas de raíz, tallo y hojas se utilizó el método propuesto por Kjeldah (1883), este análisis se realizó en el laboratorio de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo.

4. Determinación del contenido de clorofila a, b, totales y carotenos

Para determinar el contenido de clorofilas se utilizó el método modificado de Lichtenthaler (1987) y el método modificado para carotenos de Whyte (1987).

5. Determinación de bioacumulación de plomo

Para el proceso de análisis de cada tratamiento se separó la raíz y la parte aérea (tallo y hojas), siendo rotulados y enviados al laboratorio de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo, que por el método de espectrofotometría de absorción atómica se determinó la bioacumulación de plomo.

Análisis estadístico

Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente usando el programa de Statgraphics plus 5.1. Las variaciones entre tratamientos fueron determinados aplicando ANOVA, con un nivel de significancia ($p < 0.05$) y la comparación de medias empleando la prueba múltiple de Tuckey.

RESULTADOS

Se observa que el plomo causó efecto en T5 en las variables longitud de raíz (9.06 cm) y longitud de tallo (9.55cm) en relación al testigo 12.26 cm y 13.46 cm respectivamente (Fig. 1) . Así mismo los análisis estadísticos indican que existen diferencias significativas en la longitud de raíz y tallo a nivel de los diferentes tratamientos (Tabla 1, 2 3 y 4).

Con respecto al efecto del plomo en el número de raíces secundarias se observa en T5 (10) y en T2 (21); en cuanto al número de hojas el efecto del plomo se registró en T5 (11) a diferencia de T1 (15) que tuvo un crecimiento normal (Fig. 2). Así mismo los análisis estadísticos indican que existen diferencias significativas en el número de raíces secundarias y hojas a nivel de los diferentes tratamientos (Tabla 5, 6, 7 y 8).

Con respecto a la biomasa se observó que el plomo ocasionó efecto en T5 presentando un peso fresco en raíz (0.06 g), con respecto a T1 (0.46 g) y en peso seco se registró que T1 (0.08 g) es mayor con respecto a T5 (0.04 g) (Figura 3). Así mismo los análisis estadísticos indican que existen diferencias significativas entre peso fresco y peso seco de raíz (Tabla 9, 10, 11 y 12). Con respecto al peso fresco de parte aérea (hojas y tallo) en T5 (1.19 g) es menor con respecto a T1 (1.83 g) y en peso seco se registró T1 (0.37 g) es mayor con respecto a T5 (0.21 g) (Figura 4), así mismo los análisis estadísticos indican diferencias significativas entre peso fresco y peso seco de parte aérea (hojas y tallo) (Tabla 13, 14, 15 y 16).

El contenido de proteínas el plomo causo efecto en T5 siendo así que en raíz alcanzo (3.025 mg/g) a diferencia de T1 (12.569 mg/g), en hojas (3.269 mg/g) a diferencia de T1 (6.95 mg/g) y en tallo (5.092 mg/g) a diferencia de T1 (11.775 mg/g) (Fig. 5).

En relación a la cuantificación de clorofilas se observa el efecto del plomo en T5, el contenido de clorofila a y clorofilas totales se muestra una disminución en su cantidad, ocurriendo lo contrario en el contenido de clorofila b que se va incrementando ligeramente hasta T4, con respecto a la cantidad de carotenos se muestra una disminución desde T1 hasta T5 (Figura 6).

La mayor bioacumulación de plomo (mgPb/g) se dio en parte aérea (hojas y tallo) en T5 quien reportó 3.904 mgPb/g, con respecto a la raíz se reportó 0.075 mgPb/g (Figura 7).

En las plántulas expuestas a los diferentes tratamientos con plomo se observó una serie de alteraciones morfológicas, las raíces expuestas a la concentración más alta (T4 y T5) presentaron raíz principal delgada y raíces secundarias escasas y gruesas a diferencia del control quien mostró raíz principal larga y numerosas raíces secundarias (Figura 8), se observó necrosis en raíces secundarias en T4 y T5 (Figura 9), la presencia de clorosis en la parte apical de las hojas que corresponden a T4 y T5 (Figura 10), se observó marchitez avanzada en plántulas T5 en comparación con T1 que presentó un color verde uniforme y no se observó ninguna alteración morfológica (Fig. 1).

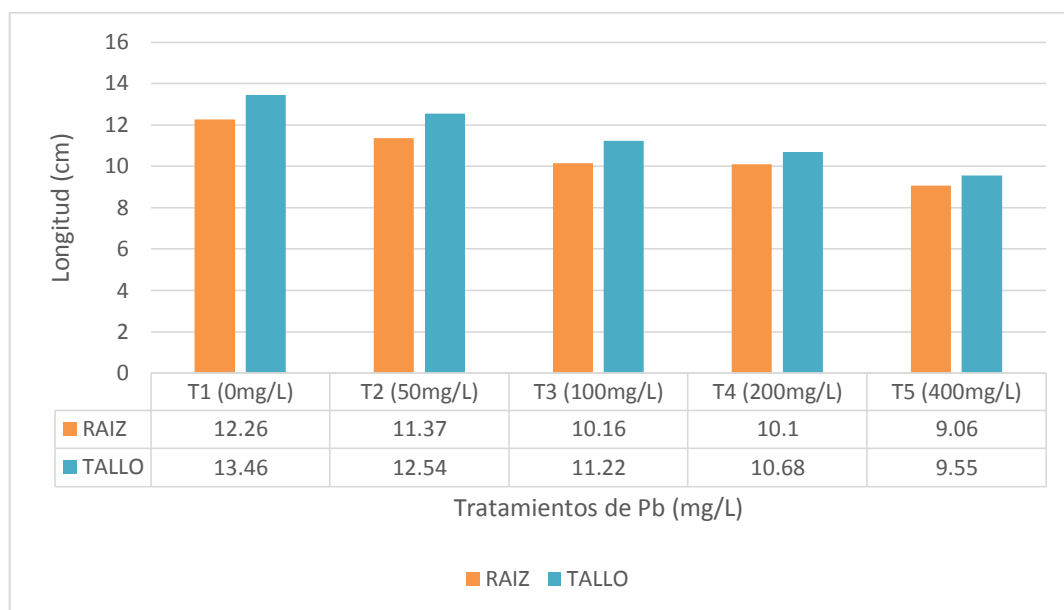


Fig. 1. Variación de longitud promedio (cm) de raíz y tallo de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

Tabla 1. Análisis de varianza de longitud de raíz de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | G L | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|--------------|-------------------|-----|----------------|--------------|---------------|
| Entre grupos | 18.537 | 4 | 4.63424 | 94.55 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.490133 | 10 | 0.0490133 | | |
| total | 19.0271 | 14 | | | |

Nivel de significancia $P < 0.05$

Tabla 2. Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey de longitud de raíz de plántulas de *A. macracantha* "espino" a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencia | |
|--------------|---------|-------------------|-----------|------------|---|
| T5 | 9.05667 | X | T1-T2 | 0.896667 | * |
| T4 | 10.1033 | X | T1-T3 | 2.10667 | * |
| T3 | 10.1567 | X | T1-T4 | 2.16 | * |
| T2 | 11.3667 | X | T1-T5 | 3.20667 | * |
| T1 | 12.2633 | X | T3-T2 | -1.21 | * |
| | | | T3-T4 | 0.0533333 | |
| | | | T3-T5 | 1.1 | * |
| | | | T4-T2 | -1.26333 | * |
| | | | T4-T5 | 1.04667 | * |
| | | | T5-T2 | -2.31 | * |

* Diferencia significativa

Tabla 3. Análisis de varianza de longitud de tallo de plántulas de *A. macracantha* "espino" a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | G L | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|--------------|-------------------|-----------|----------------|---------------|--------------|
| Entre grupos | 28.4017 | 4 | 7.10042 | 398.60 | 0.000 |
| Intra grupos | 0.178133 | 10 | 0.0178133 | | |
| total | 28.5798 | 14 | | | |

Valor de significancia $P < 0.05$ **Tabla 4.** Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey de longitud de tallo de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. "espino" a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencia | |
|--------------|---------|-------------------|-----------|------------|---|
| T5 | 9.55 | X | T1-T2 | 0.923333 | * |
| T4 | 10.68 | X | T1-T3 | 2.23667 | * |
| T3 | 11.2233 | X | T1-T4 | 2.78 | * |
| T2 | 12.5367 | X | T1-T5 | 3.91 | * |
| T1 | 13.46 | X | T3-T2 | -1.31333 | * |
| | | | T3-T4 | 0.543333 | * |
| | | | T3-T5 | 1.67333 | * |
| | | | T4-T2 | -1.85667 | * |
| | | | T4-T5 | 1.13 | * |
| | | | T5-T2 | -2.98667 | * |

*Diferencia significativa

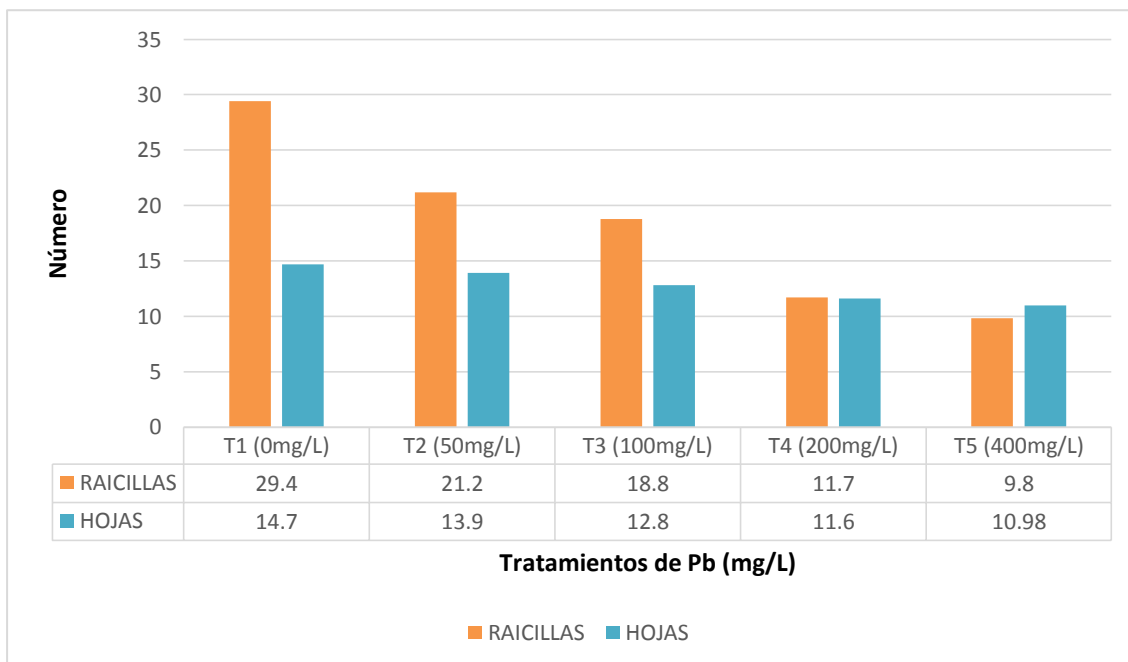


Fig. 2. Variación del número de raíces secundarias y hojas en plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

Tabla 5. Análisis de varianza del número de raicillas de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|--------------|-------------------|----|----------------|---------------|---------------|
| Entre grupos | 740.367 | 4 | 185.092 | 215.06 | 0.0000 |
| Intra grupos | 8.60667 | 10 | 0.860667 | | |
| total | 748.973 | 14 | | | |

Valor de significancia $P < 0.05$

Tabla 6. Comparación de las Medias con la Prueba de Tuckey para el número de raicillas de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencia |
|--------------|---------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 9.76667 | X | T1-T2 | 8.2 * |
| T4 | 11.7333 | X | T1-T3 | 10.5667 * |
| T3 | 18.8 | X | T1-T4 | 17.6333 * |
| T2 | 21.1667 | X | T1-T5 | 19.6 * |
| T1 | 29.3667 | X | T3-T2 | -2.36667 |
| | | | T3-T4 | 7.06667 * |
| | | | T3-T5 | 9.03333 * |
| | | | T4-T2 | -9.443333 * |
| | | | T4-T5 | 1.96667 |
| | | | T5-T2 | -11.4 * |

*Diferencia significativa

Tabla 7. Análisis de varianza del número de hojas de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|----------------|---------------|
| Entre grupos | 28.6582 | 4 | 7.16456 | 3757.63 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.0190667 | 10 | 0.00190667 | | |
| total | 28.6773 | 14 | | | |

Valor de significancia $P < 0.05$ **Tabla 8.** Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey del número de hojas de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencias |
|--------------|---------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 10.9833 | X | T1-T2 | 0.75 * |
| T4 | 11.5667 | X | T1-T3 | 1.84667 * |
| T3 | 12.82 | X | T1-T4 | 3.1 * |
| T2 | 13.9167 | X | T1-T5 | 3.68333 * |
| T1 | 14.6667 | X | T3-T2 | -1.09667 * |
| | | | T3-T4 | 1.25333 * |
| | | | T3-T5 | 1.83667 * |
| | | | T4-T2 | -2.35 * |
| | | | T4-T5 | 0.583333 * |
| | | | T5-T2 | -2.93333 * |

*Diferencia significativa

Tabla 9. Análisis de varianza de peso fresco de raíz de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|---------------|---------------|
| Entre grupos | 0.3138 | 4 | 0.07845 | 713.18 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.0011 | 10 | 0.00011 | | |
| total | 0.3149 | 14 | | | |

Valor de significancia $P < 0.05$

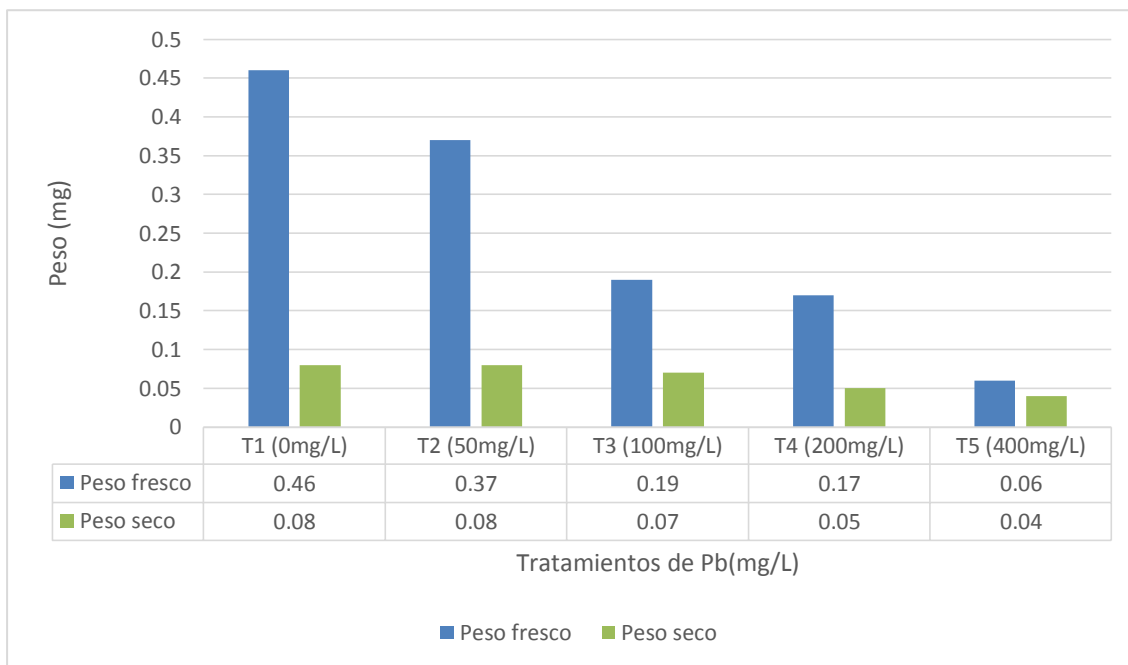


Fig. 3. Valores promedio de Peso fresco y Peso seco (mg) de raíz de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

Tabla 10. Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey para el peso fresco de raíz de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” laboratorio a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencias |
|--------------|-------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 0.06 | X | T1-T2 | 0.09 * |
| T4 | 0.17 | X | T1-T3 | 0.27 * |
| T3 | 0.19 | X | T1-T4 | 0.29 * |
| T2 | 0.37 | X | T1-T5 | 0.4 * |
| T1 | 0.46 | X | T3-T2 | -0.18 * |
| | | | T3-T4 | 0.02 |
| | | | T3-T5 | 0.13 * |
| | | | T4-T2 | -0.2 * |
| | | | T4-T5 | 0.11 * |
| | | | T5-T2 | -0.31 * |

*Diferencia significativa

Tabla 11. Análisis de varianza de peso seco de raíz de plántulas de *Acacia macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|--------------|---------------|
| Entre grupos | 0.00396 | 4 | 0.00099 | 11.65 | 0.0009 |
| Intra grupos | 0.00085 | 10 | 0.000085 | | |
| total | 0.00481 | 14 | | | |

Valor de significancia P < 0.05

Tabla 12. Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey para el peso seco de raíz de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencias |
|--------------|-------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 0.04 | X | T1-T2 | 0.0 |
| T4 | 0.05 | X X | T1-T3 | 0.01 |
| T3 | 0.07 | X X | T1-T4 | 0.03 * |
| T2 | 0.08 | X | T1-T5 | 0.04 * |
| T1 | 0.08 | X | T3-T2 | -0.01 |
| | | | T3-T4 | 0.02 |
| | | | T3-T5 | 0.03 * |
| | | | T4-T2 | -0.03 * |
| | | | T4-T5 | 0.01 |
| | | | T5-T2 | -0.04 * |

*Diferencia significativa

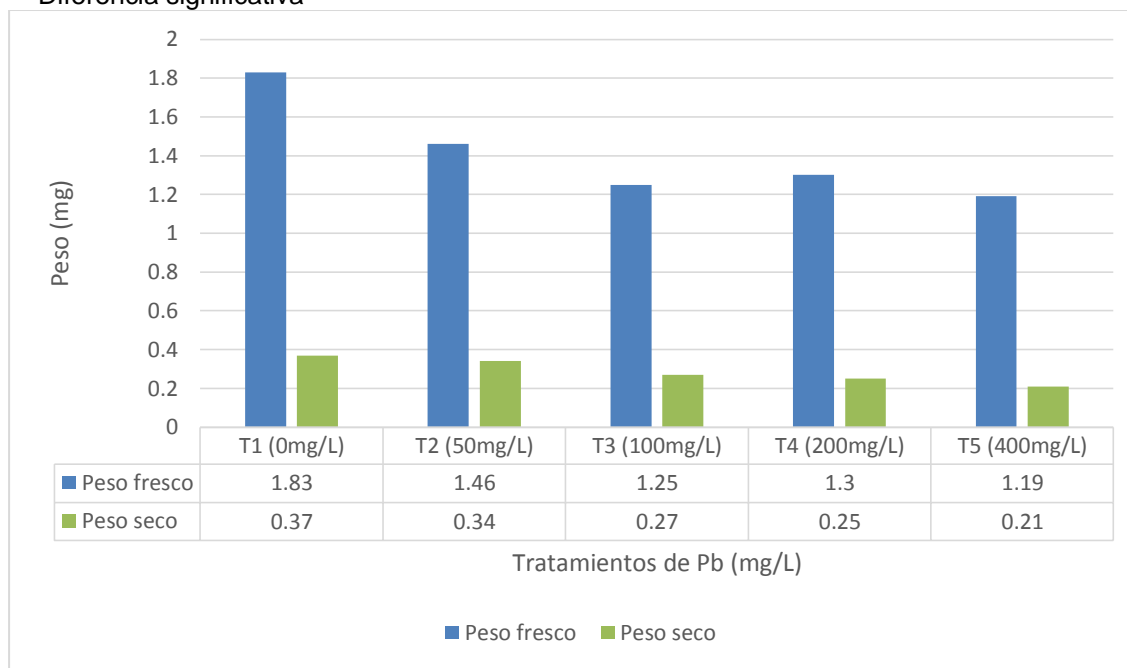


Fig. 4. Valores promedio de Peso fresco y Peso seco (mg) de parte aérea (hojas y tallo) de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

Tabla 13. Análisis de varianza de peso fresco de follaje de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | G L | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|--------------|-------------------|-----|----------------|----------------|---------------|
| Entre grupos | 0.79476 | 4 | 0.19869 | 1241.81 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.0016 | 10 | 0.00016 | | |
| total | 0.79636 | 14 | | | |

Valor de significancia P < 0.05

Tabla 14. Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey para el peso fresco de parte aérea (hojas y tallo) de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencias |
|--------------|-------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 1.19 | X | T1-T2 | 0.37 * |
| T3 | 1.25 | X | T1-T3 | 0.58 * |
| T4 | 1.3 | X | T1-T4 | 0.53 * |
| T2 | 1.46 | X | T1-T5 | 0.64 * |
| T1 | 1.83 | X | T3-T2 | -0.21 * |
| | | | T3-T4 | -0.05 * |
| | | | T3-T5 | 0.06 * |
| | | | T4-T2 | -0.16 * |
| | | | T4-T5 | 0.11 * |
| | | | T5-T2 | -0.27 * |

*Diferencia significativa

Tabla 15. Análisis de varianza de peso seco de parte aérea (hojas y tallo) de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Fuente | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón - F | Valor - P |
|--------------|-------------------|----|----------------|---------------|---------------|
| Entre grupos | 0.05184 | 4 | 0.01296 | 152.47 | 0.0000 |
| Intra grupos | 0.00085 | 10 | 0.000085 | | |
| total | 0.05269 | 14 | | | |

Valor de significancia P < 0.05

Tabla 16. Comparación de Medias mediante la Prueba de Tuckey para el peso seco de parte aérea (hojas y tallo) de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

| Tratamientos | Media | Grupos homogéneos | Contraste | Diferencias |
|--------------|-------|-------------------|-----------|-------------|
| T5 | 0.21 | X | T1-T2 | 0.03 * |
| T4 | 0.25 | X | T-T3 | 0.1 * |
| T3 | 0.27 | X | T1-T4 | 0.12 * |
| T2 | 0.34 | X | T1-T5 | 0.16 * |
| T1 | 0.37 | X | T3-T2 | -0.07 * |
| | | | T3-T4 | 0.02 |
| | | | T3-T5 | 0.06 * |
| | | | T4-T2 | -0.09 * |
| | | | T4-T5 | 0.04 * |
| | | | T5-T2 | -0.13 * |

*Diferencia significativa

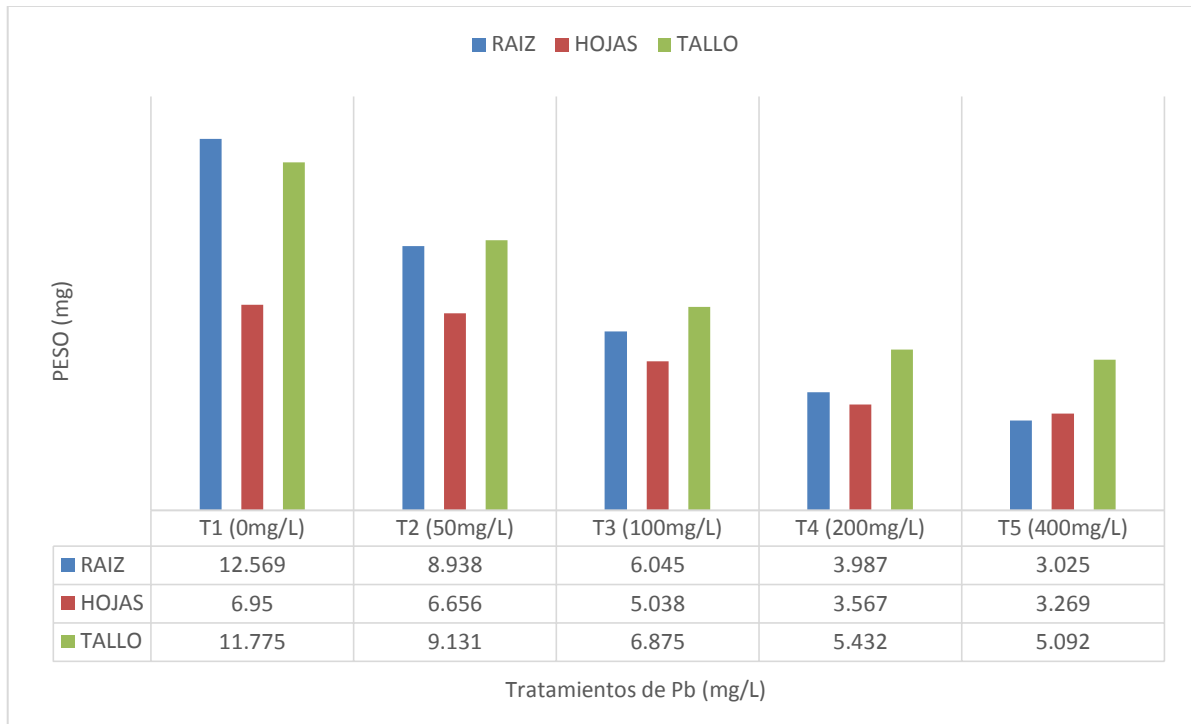


Fig. 5. Contenido de proteínas (mg/g) en raíz, hojas y tallo de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

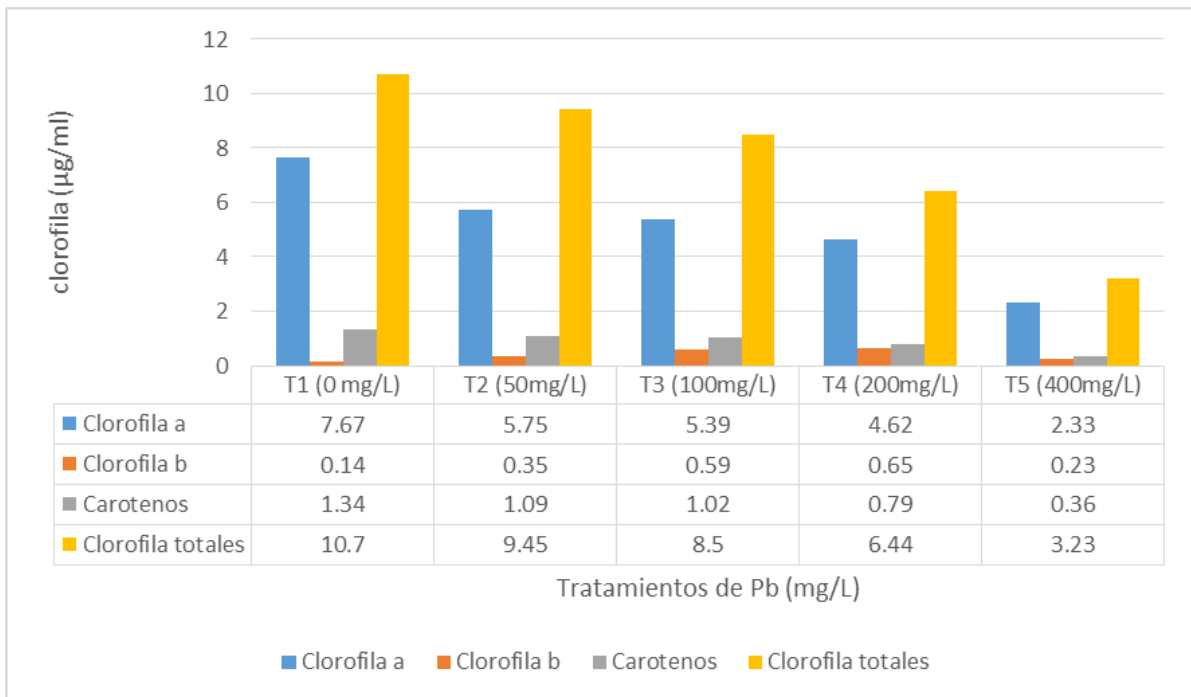


Fig. 6. Valores de clorofila a, clorofila b, clorofilas totales, carotenos (µg/ml) en hojas de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino”, a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

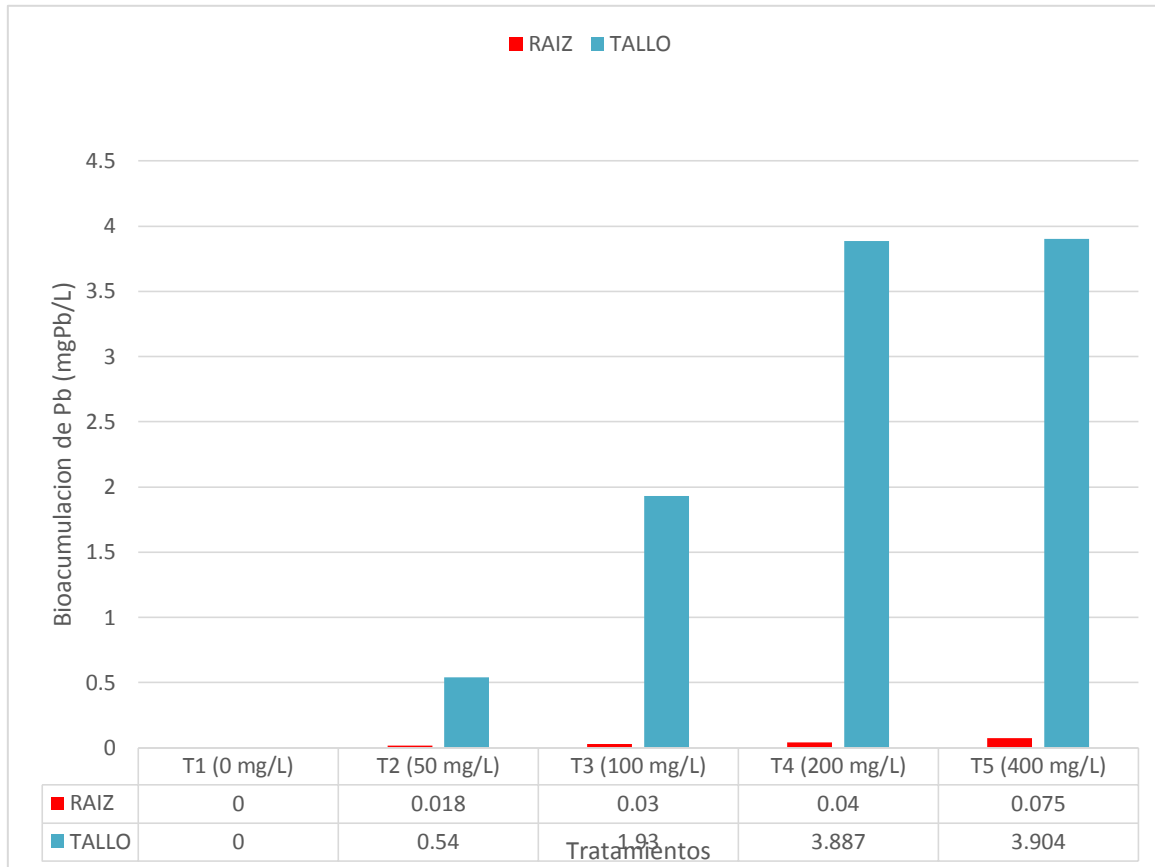


Fig. 7. Bioacumulación de plomo en raíz y parte aérea (hojas y tallo) de plántulas de *A. macracantha* H. & B: ex Will. “espino” a los 45 días de ser expuestas a los diferentes tratamientos de plomo (mg/L).

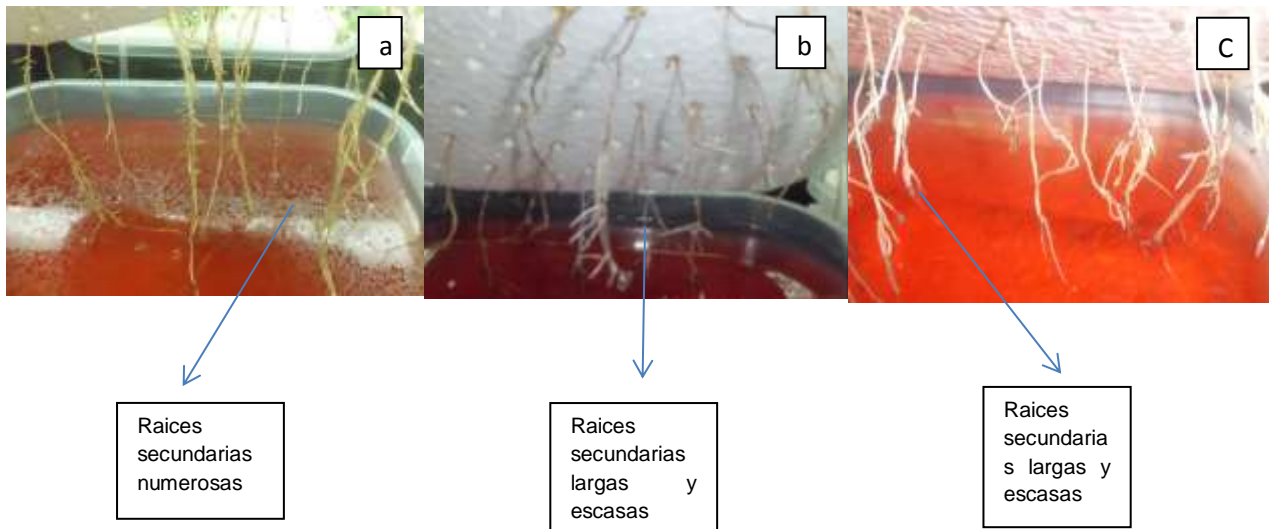


Fig. 8. Efecto del plomo en raíces secundarias de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de exposición (a) T1 (b) T4 (c) T5.

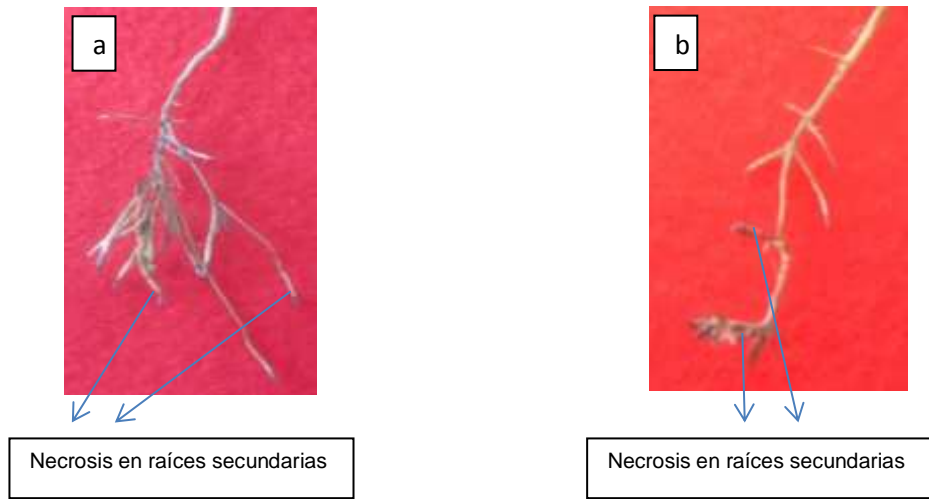


Fig. 9. Necrosis en raíces secundarias de plántulas de *A. macracantha* H. & B. ex Will. “espino” a los 45 días de exposición con plomo. (a) T4 (b) T5.

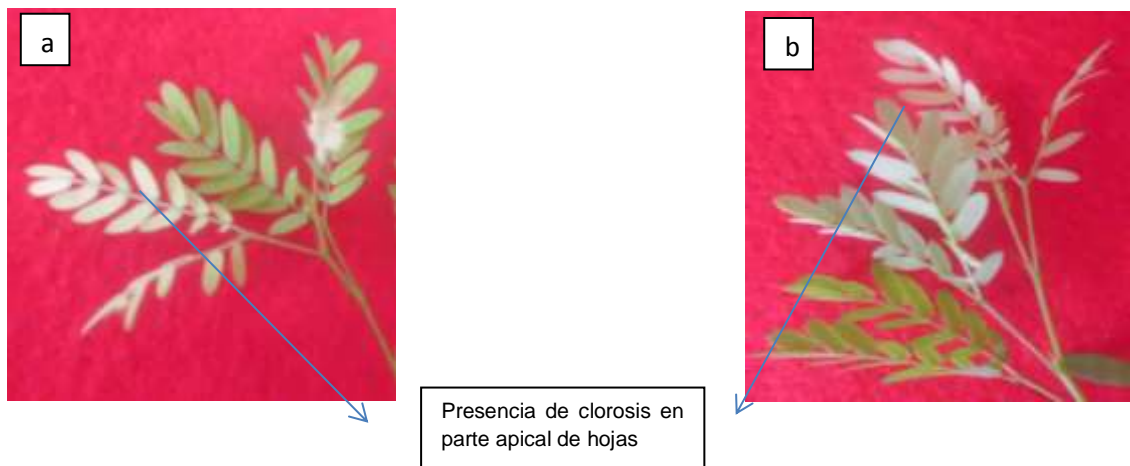


Fig. 10. Clorosis en hojas de plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de exposición con plomo (a) T4 (b) T5.

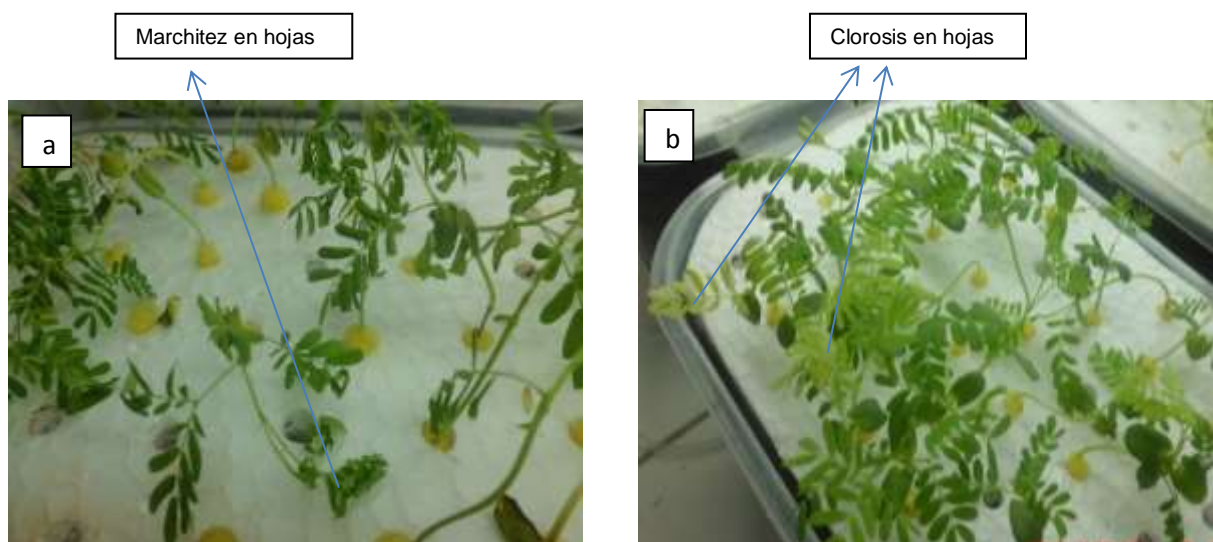


Fig. 11. Síntomas de marchitez y clorosis en plántulas de *A. macracantha* “espino” a los 45 días de exposición con plomo. (a) y (b) T5 - 400 mgPb/L

DISCUSIÓN

Las plantas en su hábitat natural se enfrentan a múltiples factores abióticos y bióticos que le ocasionan estrés y como consecuencia afectan su desarrollo y crecimiento, al realizar las evaluaciones de longitud de raíz y tallo, a la vez que presentan disminución en la cantidad de raíces secundarias y hojas en T5 (400 mg/L), lo que nos lleva a deducir que a medida que se aumentan las concentraciones de plomo, se produce una disminución en el crecimiento de las plántulas, probablemente esté relacionado con la fisiología de la planta al asimilar el plomo durante su metabolismo y el tiempo al que estuvieron expuestas al metal, siendo así que la raíz es el primer órgano en contacto con el plomo, capturándolo y trasladándolo a la parte aérea, Herrera *et al.* (2010) manifiestan que el plomo es un elemento que a altas concentraciones afecta el crecimiento radicular, debido a los desequilibrios nutricionales que ocasiona por la deficiencia de absorber elementos minerales esenciales alterando de esta manera el crecimiento de la planta, Barceló *et al.* (2003) manifiestan que todas las plantas absorben metales pero en distinto grado, dependiendo de la especie y la forma como está la excluya dentro de sus órganos y la traslade a su parte aérea en forma no toxica para esta, esta habilidad es un carácter fijado genéticamente pero modificable por adaptación.

Con respecto a la biomasa se determinó que disminuye conforme aumenta la concentración de plomo debido a que este ocasiona un desbalance en la asimilación de los nutrientes al bloquear el acceso de nutrientes en la raíz, provocando una reducción en el crecimiento y la producción de peso seco, en cambio las plantas del control presentaron un mejor desarrollo y crecimiento observándose un buen aspecto foliar, por lo que podemos deducir que existe una relación directa entre la producción de biomasa y el contenido de plomo, así tenemos estudios realizados por García (2006) quien encontró que en plantas expuestas a cadmio, aluminio, cobre, níquel, zinc y mercurio en altas concentraciones presentaron cierre estomático ocasionando déficit hídrico, interfiriendo así en la absorción y translocación del agua alterándose el metabolismo de los hidratos de carbono, dando como resultado la reducción de la producción de la biomasa.

En la cuantificación de proteínas se observa que a medida en que las concentraciones de plomo aumentan, la cantidad de estas disminuye, así se aprecia en T5, estudios realizados por Ivanov *et al.* (2003) reportaron que los principales blancos de la toxicidad de los metales son las proteínas, muchas de ellas con actividad enzimática, afectando a diversos procesos bioquímicos, la integridad de las membranas celulares y la de los organelos, el plomo genera la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) dentro de las plantas, provocando la ruptura de los enlaces peptídicos de las proteínas y ácidos nucleicos, las ROS (especies reactivas de oxígeno) son muy toxicas provocando así, la inactivación de muchas enzimas produciéndose la peroxidación lipídica que es un indicador del daño oxidativo.

El estudio de los pigmentos fotosintéticos tiene importancia desde el punto de vista ecofisiológico ya que informa sobre la productividad y eventos de estrés al que están sometidas las plantas, Franco (2010) indico que el plomo reduce la producción de clorofila a, dificultándose la absorción de los elementos esenciales como Mg y Fe por parte de las plantas, esto se debe a la afinidad del plomo por los ligandos de proteínas N y S, la degradación de las clorofilas se debe al incremento de la actividad de la clorofilasa, esto ocasiona que la clorofila b se reconvierta en clorofila a, siendo estos pigmentos esenciales para la absorción de la energía de la luz, reduciendo el CO₂ a carbohidratos que son esenciales para el desarrollo y crecimiento, en los resultados obtenidos en este trabajo se pueden observar que a medida que se aumentan las concentraciones de plomo las clorofila a disminuye y la clorofila b empieza a aumentar (Fig. 6). Con respecto al resultado de carotenos se observa una disminución de estos, Tanaka *et al.* (2002) manifiestan que los carotenos sirven como antenas para colectar la luz y transferirla a los centros de reacción que están relacionados con la protección contra el daño fotooxidativo del aparato fotosintético al disipar el exceso de luz absorbida por los pigmentos.

En cuanto a la bioacumulación de plomo observamos que existe mayor concentración en la parte aérea del T4 y T5, podemos decir que esta especie posee un sistema interno que le permite trasladar el plomo de la raíz hacia la parte aérea, esto podría deberse a que se une a

fitoquelatinas formando un complejo molecular estable, que luego es transportado a la parte aérea de la planta. Estudios realizados por Buendía (2010) en *Prosopis laevigata*, encontró que la acumulación de Pb^{2+} y Ni^{2+} , se daba en el tallo, siendo así que la raíz lo trasloca a la parte aérea, en *Amaranthus hybridus* L. la concentración de plomo se daba tanto en hojas como en tallo y raíz conforme aumentaba la edad de la planta, en *Brassica juncea* absorbió y trasloco plomo, níquel y cadmio en sus hojas y tallo, *Helianthus annuus* es la especie que absorbe una serie de metales pesados en grandes cantidades en sus raíces, por lo tanto se puede decir que la distribución de los iones metálicos depende de la especie vegetal y del tiempo de exposición.

Las plantas son importantes porque nos ayudan a entender la capacidad que tienen para controlar el estrés oxidativo, es así que el plomo en altas concentraciones produce clorosis, crecimiento débil de las plantas ocasionando la reducción de la captación de los nutrientes al producir desordenes metabólicos. Por otra parte Lerda (1992) encontró en *Allium cepa* que el plomo en altas concentraciones reducía el crecimiento radicular y la frecuencia de células mitóticas e incrementa la frecuencia de células aberrantes, esto está en relación al tiempo de exposición ya que la toxicidad se inicia en las células de la raíz, afectando los procesos de división celular en la zona apical, en donde se inicia el efecto toxico, así se observa un engrosamiento radial y la producción de raíces laterales que crecen longitudinalmente, como podemos observar en los T4 (200 mgPb/L) y T5 (400 mgPb/L) donde el sistema radicular se aprecia delgado no muy largo con la presencia de raíces secundarias largas y gruesas en poca cantidad, el plomo también afecta a la parte aérea en altas concentraciones produciendo reducción de su área foliar, se presenta clorosis por la deficiencia de hierro, fosfatos y manganeso, necrosis por la alteración del funcionamiento de la membrana celular, la que trae como consecuencia su degradación, pérdida de compartimentación celular que conlleva por ultimo a la apoptosis que es la muerte segura de la planta, pues a medida que se aumentan los días, el plomo se va acumulando cada vez más alrededor de las vacuolas y la pared celular, llegando al final a dañar al vegetal (Panich-pat, 2005; Peralta *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

El plomo ocasiono efecto en T5 en plántulas de *A. macracantha* "espino", alcanzando los valores de 9.06 cm en longitud de raíz, 9.55 cm en longitud de tallo, número de raíces secundarias 10, hojas 11, en peso seco de raíz 0.04 g, peso seco de parte aérea (hojas y tallo) 0,21 g., contenido de proteínas: raíz 3.025 mg/g, hojas 3.269 mg/g, tallo 5.092 mg/g., presencia de clorofila a 2.33 µg/ml y carotenos 0.36 µg/ml.

El plomo ocasiono en T4 y T5 alteraciones morfológicas como clorosis en la parte apical de las hojas y necrosis en las raíces secundarias y en raíz principal.

Esta especie vegetal en condiciones de laboratorio bioacumulo cantidades significativas de plomo en su parte aérea, siendo el valor de 3.904 mgPb/g en T5.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abollino, O.; M. Aceto; M. Malandrino; E. Mentaste; C. Sarzanini & R. Barberio.** 2002. Distribución y Movilidad de metales pesados en suelos contaminados. Investigación química de perfiles contaminantes. Contaminantes Ambientales. 119: 177.
- Alcalá, J.; J. Rodríguez; M. Villaseñor; A. Hernández; M. García; A. Beltrán & H. Rodríguez.** 2013. Vegetación bioindicadora de metales pesados en un sistema semiárido. Revista FCA UNCUYO. 45(1): 27 – 42.
- Atici, O.; G. Agar & P. Battal.** 2003. Interaction between endogenous plant hormones and α -amylase in germinating chickpea seeds under cadmium exposure. Fresenius Environment Bulletin 12: 781 – 785.

- Azcón – Bieto, J. & M. Talón.** 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. (2° ed.). Madrid: Mc Graw Hill.
- Barceló J. & C. Poschenrieder.** 2003. Phytoremediation principles and perspectives. Contributions to Science. Institut de Estudis Catalons. Barcelona; 2(3): 344.
- Buendía, L.; J. Orozco; M. Estrada; C. Barrera; E. Vernon & F. Cruz.** 2010. Acumulación in vitro de Pb y Ni en plántulas de “mesquite” (*Prosopis laevigata*). Revista Mexicana de Ingeniería Química. México. 9(1): 1-9.
- Enger, E. & B. Smith.** 2006. Ciencia Ambiental: un estudio de interrelaciones. (10° ed.). México: Editorial Mc Graw Hill.
- Flores, J.; S. López & L. Albert.** 1995. La contaminación y sus efectos en la Salud y el Ambiente. Centro de Ecología y Desarrollo. A.C. México.
- Franco M.; M. Vásquez; A. Patiño & L. Dendovent.** 2010. Heavy metals concentration in plants growing on mine tailings in central México. Biores. Techn. 101: 3864 – 3869.
- Freitas, H. & M. Prasad.** 2003. Metal hyperaccumulation in plants. Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology. 6(3): 285 – 321.
- García, D.** 2006. Efectos fisiológicos y compartimentación radicular en plantas de *Zea mays* L. expuestas a la toxicidad de plomo. Tesis grado Doctor. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- Herrera, A.; E. Rengifo & W. Tezara.** 2010. Respuestas ecofisiológicas a la inundación en arboles tropicales tolerantes de un iguapó. Ecosistema. 19: 37-51.
- Ivanov, V.; B. Strova & E. Seregin.** 2003. Comprative impacts of heavy on root growth as related to their specificity and selectivity. Russian J. Plant Physiol. 50: 398 - 406.
- Lassat, M.** 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. Journal of Enviromental Quality. 31: 109 – 120.
- Lerda, D.** 1992. The effect of lead on *Allium cepa* L. mutation on research, 281: 89 – 92.
- Lerma, M.** 2006. Evaluación de suelos y Especies Vegetales con potencial de Acumulación de metales pesados. Tesis Grado de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma de Chihuahua. México.
- Lichtenthaler, H. K.** 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. In Methods in Enzymology. Academic Press, Inc. 148: 350 – 382.
- Lichtenthaler, H. K. & C. Buschmann.** 2001. Chlorophylls and carotenoids – measurement and characterization by UV-VIS. Current protocols in food analytical chemistry. In: Willey J. Current Protocols in food hemistry, New York. F4.3.1 – F4.3.8 pp.
- Martin, C.** 2000. Heavy Metals Trends in Flood – plain sediments and valley Fill. Catena. 39: 53 – 68.
- Mostacero, J.; F. Mejía & O. Gamarra.** 2009. Fanerógamas del Perú: Taxonomía, Utilidad y Ecogeografía. (1° ed.). Perú: Concytec.
- Panich-pat, T.** 2005. Phytoextraction and Accumulation of lead from contaminated soils by *Typha angustifolia*. Tesis para optar el grado de Doctor. Phylosophy (Biology) Mahidol University.
- Peralta M. & T. Volke.** 2012. La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 11(1): 75 – 88.
- Pérez, A.; C. Céspedes; I. Almonte; D. Sotomayor; C. Cruz & P. Núñez.** 2012. Evaluación de la calidad del suelo explotado para la minería después de diferentes sistemas de manejo. Chapingo. México. Terra Latinoamericana. 30(3): 201 – 211.
- Prieto, J.; C. González; A. Román & F. Prieto.** 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. Tropical and Subtropical Agroecosystems. Universidad Autónoma de Yucatán. México. 10(1): 29 – 44. ISSN: 1870-0462.
- Prieto, G.; F. Martínez; P. Méndez & M. Prieto.** 2007. Presencia de Metales Pesados en cultivos de Actopan e Ixmiquilpan. Valle del Mezquital, México, por riego con aguas negras. Revista Latino Americana. Recursos Naturales. México. 3: 100 – 111.
- Ramos, R.; L. Cajuste; D. Flores & N. García.** 2001. Metales pesados en suelos de Chirampa en México. Agrociencia. 35: 385 – 395.
- Reigosa, M., N. Pedrol y A. Sánchez.** 2004. La Ecofisiología Vegetal: Una ciencia de síntesis. (1° ed.). España: Thomson.
- Romero, M. del P. & L. Guerrero.** 1992. Ecología y Agricultura. (3° ed.). México: Interamericana.

- Rubio, C.; A. Gutiérrez; R. Martín; C. Revert; G. Lozano & A. Hardinson.** 2004. El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*. Asociación Española de Toxicología. España, 21: (2 – 3), 72 – 80.
- Salas, F.** 2007. Selección in vitro de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación. Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana. México: Iztapalapa.
- Sierra, R.** 2006. Fitorremediación de un suelo contaminado con plomo por actividad industrial. Tesis Ingeniero Agrícola y Ambiental. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México: Buena Vista.
- Smirnoff, N.** 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78: 661 – 669.
- Talanova, V.; A. Titoov & N. Boeva.** 2000. Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings. *Biol. Plant.* 43: 441 – 444.
- Tanaka R. & R. Tanaka.** 2002. Tetrapyrrole evolution of photosynthesis. *Annual Review of Plant Biology.* 53: 503 – 521.
- Vargas, L.; M. Martínez; R. Ortiz & J. López.** 2007. Efecto de metales pesados sobre el crecimiento de la raíz primaria de *Arabidopsis thaliana*. *Ciencia Nicolaita*. pp. 49.
- Verma, S. & R. Dubey.** 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant. Sci.* 164: 645 – 655.
- Volke – Sepúlveda, T., J. Velasco – Trejo & D. de la Rosa Pérez.** 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestreo y Alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (INE – SEMARNAT). Pp. 141.