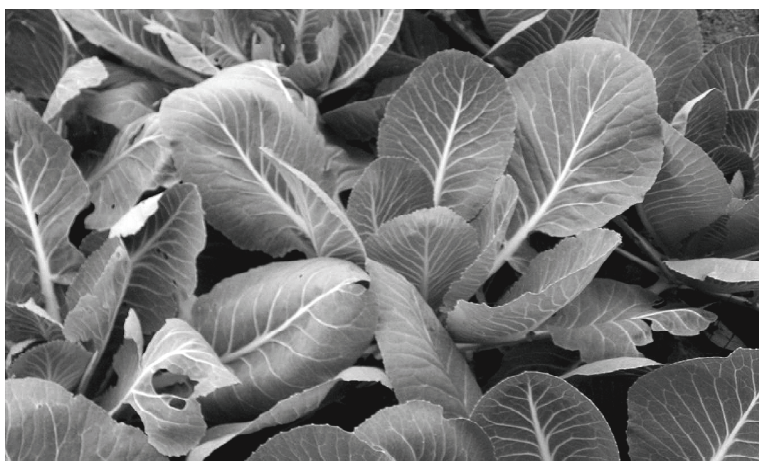


Crecimiento de plantas de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *Itálica*) afectadas por exceso de zinc

Growth of broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *Itálica*) affected by excess zinc



FÁNOR CASIERRA-POSADA^{1,4}

LEONARDO A. GONZÁLEZ²

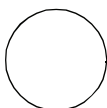
CHRISTIAN ULRICH³

Plantas de brócoli en desarrollo.

Foto: D. Miranda.

RESUMEN

Mundialmente, las actividades de minería han contaminado los recursos suelo y agua con metales pesados como el zinc; este es uno de los micronutrientes esenciales para el normal crecimiento y desarrollo de los vegetales, y se requiere en muchos procesos metabólicos; sin embargo, su presencia en concentraciones elevadas retrasa el crecimiento y el desarrollo vegetal. El desarrollo de cultivos cerca de áreas industriales o su riego con aguas contaminadas puede provocar la reducción del crecimiento y la acumulación de metales en los tejidos. Para investigar las modificaciones inducidas por el zinc sobre el crecimiento de brócoli, las plantas se expusieron a 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ de zinc en el sustrato. Las plantas crecieron en bolsas con suelo. A las plantas control no se les adicionó zinc. Se evaluó el área foliar, el peso seco, la relación raíz: parte aérea y la distribución de materia seca en todas las plantas al momento de la cosecha. El análisis de resultados reveló una reducción significativa de 19,6; 34,1 y 39,8% en el área foliar de las plantas que crecieron expuestas a 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ de zinc, respectivamente, en relación con el control. La materia seca total también se redujo 25,9; 42,8 y 47,8%, respectivamente, en el mismo orden de tratamientos. Mientras los valores porcentuales de distribución de materia seca en flores, tallos y hojas no fueron estadísticamente afectados por el zinc, la materia seca asignada a las raíces se redujo a la mitad en todos los tratamientos en que se adicionó el metal.



Palabras clave adicionales: toxicidad, metales pesados, minería, desarrollo.

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación Ecofisiología Vegetal, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja (Colombia).

² Elagro Milenio, Tunja (Colombia)

³ Humboldt-Universität zu Berlin, Faculty of Agriculture and Horticulture, Division Urban Plant Ecophysiology, Berlin (Alemania).

ABSTRACT

Mining activities have contaminated soil and water resources with heavy metals such as zinc worldwide. Zinc is one of the essential micronutrients for normal growth and development of plants, and it is known to be required in several metabolic processes. However, the presence of zinc at high concentrations retards growth and development of plants. The cultivation of crops close to industrial areas or irrigation with contaminated water may result in both growth inhibition and tissue accumulation of metals. In order to investigate the changes induced by zinc on the growth of *Brassica oleraceae* L., plants were subjected to concentrations of 50; 100 and 200 mg kg⁻¹ of zinc added to the substrate. The plants were grown in pots with soil. No zinc was added to the control plants. The leaf area, dry weight, root to shoot ratio and dry matter partitioning were recorded at harvest in all plants. The analysis of the results revealed a significant reduction of 19.6, 34.1 and 39.8% in leaf area in plants grown with 50, 100 and 200 mg kg⁻¹ of zinc, respectively, compared to controls. Total dry matter was also reduced by 25.9, 42.8 and 47.8%, respectively in the same order of treatments. While the perceptual values of the dry matter partitioned in flowers, stems and leaves was statistically unaffected by zinc, the assigned dry matter to roots was reduced by half in all treatments in which zinc was added.

Additional key words: toxicity, heavy metals, mining, development.

Fecha de recepción: 29-07-2010

Aprobado para publicación: 26-10-2010

INTRODUCCIÓN

El departamento de Boyacá (Colombia) cuenta con una reserva medida de 170 millones de toneladas 10⁶ de carbón en la región de Paz del Río, y produjo en 2009 1,8 t de este mineral, según proyección realizada en 2008 (Consejo Nacional de Política Económica y Social, 2008). El 55% de los municipios de Boyacá dedican sus actividades a la minería, entre otras, para la extracción de esmeraldas e hidrocarburos, carbón térmico y carbón coquizable (Sosa y Urrea, 2010). Se ha observado con preocupación la situación que se presenta con la explotación minera, que viene causando problemas en varios municipios, y amenaza con desestabilizar la región en materia ambiental. Los ambientalistas afirman que la riqueza carbonífera en el departamento es de una magnitud importante, pero que el ambiente no se puede desmejorar porque afecta la calidad de vida de los habitantes (Radio Cadena Nacional, 2010).

Las actividades mineras y de fundición han contaminado los recursos suelo y agua con metales pesados en todo el mundo (Basta y McGowan, 2004). La acumulación de metales pesados en los suelos y, posteriormente, en los

eslabones de la cadena alimenticia son amenazas potenciales para la salud humana (Hettiarachchi *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2000.). Por tanto, se hace necesaria una mayor conciencia ambiental para remediar los suelos contaminados con metales pesados.

Los metales pesados son contaminantes del medioambiente, no biodegradables y muy persistentes, que pueden depositarse en las superficies y luego ser absorbidos por las plantas. La toma por parte de las plantas se realiza por los órganos expuestos al aire o a suelos de ambientes contaminados (Sharma *et al.*, 2008a, 2008b). Varios estudios han encontrado metales pesados como contaminantes importantes de los vegetales (Singh *et al.*, 2004; Sinha *et al.*, 2006; Singh y Kumar, 2006; Sharma *et al.*, 2006, 2007, 2008a, 2008b). La contaminación por metales pesados en hortalizas también puede ocurrir debido al riego con agua contaminada (Singh *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2006, 2007; Singh y Kumar, 2006). La aplicación de lodos al suelo proporciona una cantidad significativa de nutrientes para las plantas, como cobre,

manganeso, hierro, zinc, fósforo y potasio (Parkpain *et al.* 2000), pero también incrementa considerablemente el contenido de metales pesados en los suelos.

Tecnologías de remediación del suelo basadas en la excavación, transporte y vertido de los suelos contaminados por metales y desechos son altamente efectivas y conllevan un bajo riesgo, pero tienen un costo elevado. Las técnicas de remediación *in situ* son de interés particular, debido a que son relativamente rentables, en comparación con técnicas convencionales (Yang *et al.*, 2001). Por otro lado, el uso de fosfatos como agente estabilizador es particularmente atractivo en suelos contaminados con plomo (Theodoratos *et al.*, 2002). Por tanto, se sugiere el uso de fertilizantes fosfatados para inducir la inmovilización de metales pesados como Pb, Cd y Zn (Wang *et al.*, 2008). Se ha informado que la roca fosfórica adicionada al suelo no es efectiva para reducir el contenido de Cd y Zn (Basta y McGowen, 2004). Por el contrario, la adición de superfosfato triple al sustrato es eficaz en la reducción del contenido de Zn y Cd en la parte aérea de la planta (Chen *et al.*, 2007).

Algunos organismos tienen la capacidad de acumular en su organismo metales pesados en concentraciones muy superiores a aquellas que, por lo general, se encuentran en el medioambiente. Este proceso se puede definir mediante dos nociones básicas: la bioconcentración y bioacumulación; la primera es el incremento directo de la concentración de contaminantes mientras pasan del medioambiente a un organismo, y la segunda se refiere al efecto biológico relacionado con la capacidad que tiene un tejido vivo para acumular contaminantes, que pueden ser eliminados o magnificados (Bermond, 1998; Smical *et al.*, 2008). Especies que bioacumulan contaminantes han sido utilizadas con fines de monitoreo y prospección de metales pesados en las zonas de anomalías por contaminación con metales pesados. El follaje de árboles y arbustos es considerado como un bioindicador confiable de la contaminación ambiental (WisBocka *et al.*, 2006).

Metales depositados a la intemperie producen formas complejas que varían mucho en su movilidad en el suelo y, por tanto, en su disponibilidad a las plantas (Jensen *et al.*, 2006; Selim y Kingery, 2003). Algunos procedimientos químicos han sido útiles para separar los metales del suelo en diferentes formas reactivas (Almås *et al.*, 2006; Chague-Goff, 2005; Steele y Pichtel, 1998). Cada fracción de metal se asocia a cierto grado de movilidad en la biosfera, y del mismo modo a una biodisponibilidad para las plantas. Es así como la movilidad de los metales pesados en los suelos depende de su especiación química, del pH del suelo y de las propiedades fisicoquímicas del suelo. La investigación reciente ha abordado la posibilidad de alterar la biodisponibilidad *in situ* del Zn en el de suelo, mediante la alteración de las formas minerales del elemento o a través del incremento de la capacidad de adsorción de los suelos (Mench *et al.*, 2000 y 1994). El alto grado de semejanza genética entre los géneros *Brassica* y *Arabidopsis* ha permitido que *Brassica* sea considerado como un sistema modelo alternativo en el campo de la fisiología vegetal. Además, su amplia distribución en la naturaleza ha dado lugar a una existencia variada de ecotipos. Como resultado, las especies de *Brassica* son consideradas plantas modelo, importantes para estudiar las interacciones entre la planta y diversos factores ambientales, incluyendo los metales en el suelo, la radiación UV y la sequía; así como con organismos vivos, como insectos, hongos o bacterias (Lee *et al.*, 2004; Mahuku *et al.*, 1996). Económicamente, las especies de *Brassica* se han convertido en cultivos importantes y son considerados una valiosa fuente de aceite vegetal y proteínas para la nutrición humana (Thiyam *et al.*, 2004). Por otra parte, las hortalizas de este género son bien conocidas como fuentes de vitaminas, glucosinolatos, azúcares solubles, grasas, carotenoides y fibras (Bellostas *et al.*, 2007).

Brassicaceae es una familia con muchas especies acumuladoras de metales (Broadley *et al.*, 2001). *Brassica juncea* (L.) Czern. tiene la capacidad de asimilar y acumular niveles muy altos de metales pesados, como Cd, Cu, Ni, Zn, Pb y Se (Kumar *et al.*, 1995; Sal *et al.*, 1995; Blaylock *et al.*, 1997; Raskin *et al.*, 1997). Líneas de *B. juncea* se han utilizado para la fitoextracción en suelos

contaminados con metales (Blaylock *et al.*, 1997; Ebbs y Kochian, 1998). La acumulación se ha estudiado también en otras especies de *Brassica* (Kumar *et al.*, 1995). Ciertas especies de la familia Brassicaceae, como el repollo (*B. oleracea* L.), pueden acumular tal cantidad de metales pesados (Kabata-Pendias, 2001) que llegan a considerarse riesgosas para la salud humana.

La producción de cultivos cerca de sitios contaminados puede llevar tanto a la inhibición del crecimiento de las plantas como a la acumulación de los metales en los tejidos, dando lugar a posibles riesgos para los seres humanos (Gisbert *et al.*, 2006). Se ha reportado el retraso del crecimiento en especies de *Brassica* por la acumulación de cadmio, cobre, plomo y zinc (Gisbert *et al.*, 2006). La respuesta de las plantas a la toxicidad por metales se expresa en gran variedad de maneras, que incluyen la inmovilización, la exclusión, la quelatación y la compartimentación de los iones, así como la expresión de mecanismos más generales de respuesta al estrés, a través de la producción de ácidos orgánicos, como citratos, malatos y algunos aminoácidos. Por su parte, la histidina es particularmente importante en la quelatación de algunos iones metálicos (Cobbett, 2000).

El objeto del presente estudio fue la determinación del efecto del exceso de zinc en plantas de brócoli, teniendo como parámetros de evaluación la producción y distribución de masa seca en los diferentes órganos de la planta y el área foliar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó bajo condiciones de campo abierto en la granja Las Flores, de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, en Tunja (Boyacá). Esta localidad está ubicada a 2.790 msnm, con temperatura promedio de 13°C y humedad relativa de 86%. Para determinar el efecto de la toxicidad por zinc sobre el crecimiento y la distribución de materia seca en plantas de brócoli se utilizó el híbrido Legacy, que se cultiva comúnmente en la región. Al momento del trasplante, las plántulas utilizadas para el ensayo tenían 25 d de edad luego de la siembra

de las semillas en las camas de germinación. Posteriormente, las plántulas se llevaron a bolsas negras con capacidad para 5 kg de suelo. Antes del trasplante se realizó un análisis al suelo de las bolsas, el cual determinó un contenido de materia orgánica de 7,2%, zinc 0,97 mg kg⁻¹ y pH de 5,6, que corresponden a valores comúnmente encontrados en los suelos de la zona. Cuando las plantas reiniciaron el crecimiento en las bolsas, se comenzó gradualmente la adición de sulfato de zinc (Merck®) en concentraciones de 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ de Zn. A las plantas control no se les adicionó el sulfato.

Las plantas se cosecharon 80 d después del trasplante, momento en el que se determinó el área foliar, mediante un analizador LI-3000A (LI-COR®, Nebraska - USA); la acumulación de biomasa en cabeza, hojas, tallos y raíces, mediante el secado de los diferentes órganos a 70°C durante 72 h, y la relación raíz-parte aérea, como el cociente del peso seco de la raíz y el de la parte aérea.

El diseño utilizado fue completamente al azar, con cuatro tratamientos y 20 plantas por tratamiento, en donde cada una representó una repetición. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza clásico para determinar la significancia. La diferencia entre promedios se determinó mediante la prueba de comparación de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con la versión 17.0.0 de la aplicación SPSS®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$) en plantas de brócoli sometidas a las diferentes concentraciones de zinc. De hecho, las plantas sometidas a 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ de zinc presentaron una reducción de 19,6; 34,1 y 39,8% en el área foliar, respectivamente, en relación con las plantas a las cuales no se les adicionó este metal. Cabe resaltar que no hubo diferencia significativa entre todos los tratamientos que contenían zinc, pero sí entre estos tratamientos con las plantas control, sin la adición del metal, como se observa en la figura 1.

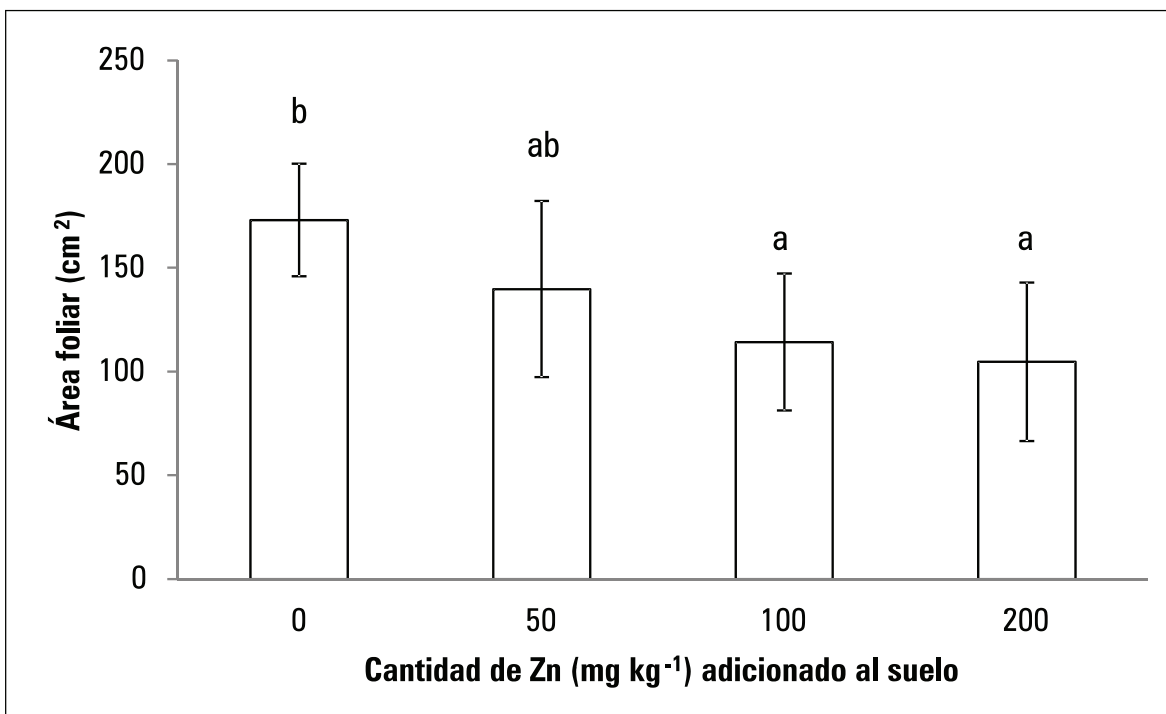


Figura 1. Área foliar en plantas de brócoli sometidas a exceso de zinc en el suelo. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

El peso seco total por planta fue disminuido considerablemente con la adición de zinc al suelo.

Al respecto, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$). De igual manera, como

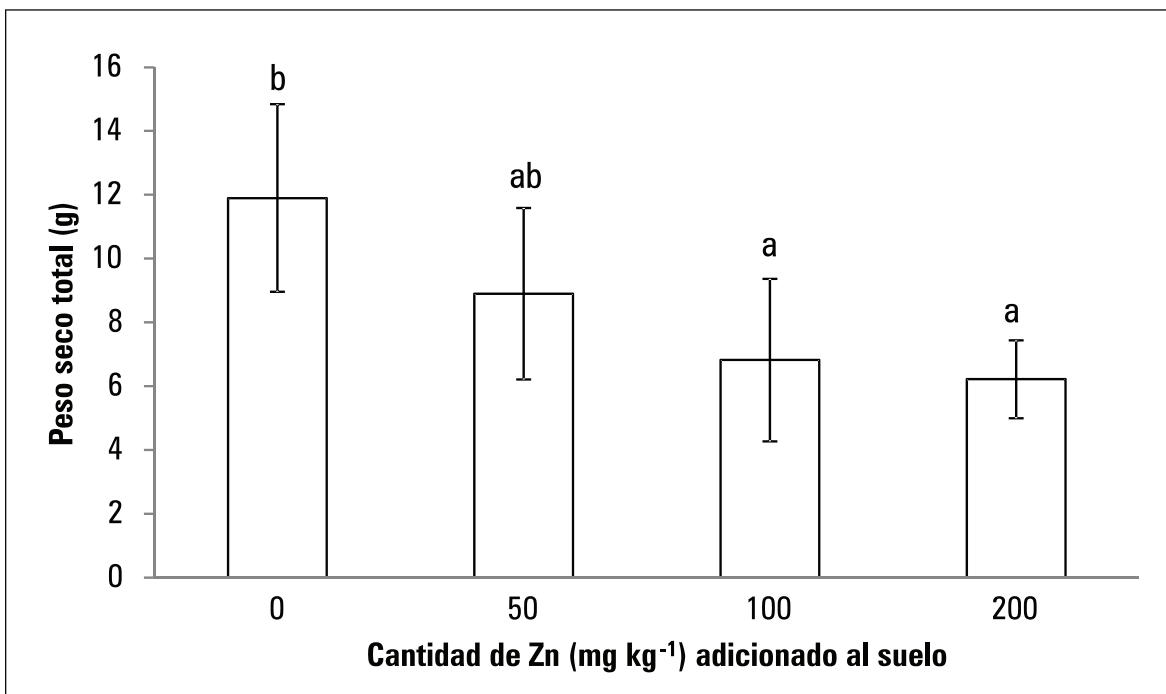


Figura 2. Peso seco en plantas de brócoli sometidas a exceso de zinc en el suelo. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

se presentó en el área foliar, el peso seco total producido por planta no presentó diferencia significativa entre las plantas sometidas a 50, 100 y 200 mg kg⁻¹, pero sí se diferenciaron significativamente con las plantas control. Se encontró que el zinc adicionado en concentraciones de 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ provocó una reducción del peso seco total de la planta en términos de 25,9; 42,8 y 47,8%, respectivamente, en relación con las plantas control, como se observa en la figura 2.

La reducción en el peso seco acumulado por la planta pudo ser una consecuencia de la disminución del área foliar y de la inhibición de la fotosíntesis inducida por contenidos altos de zinc en el tejido vegetal. Es así como el incremento de la resistencia mesofílica puede ser consecuencia de alteraciones en la cadena transportadora de electrones a nivel del PS II y del PS I, influida por altas concentraciones de zinc o por interacción con otros componentes intermedios (Prasad y Strzalka, 1999). De igual manera, el zinc puede causar la inhibición de la síntesis de clorofila y alteraciones en la estructura

de los cloroplastos, así como la inhibición de enzimas en el ciclo de Calvin, tales como la RudP carboxilasa/oxigenasa, PEP carboxilasa, la fructuosa-6-fosfato-dikinasa y otras (Barceló y Poschenrieder, 1999).

La reducción en la producción de materia seca acumulada por planta es un resultado frecuentemente reportado cuando las plantas se exponen a exceso de zinc. Es así como otros autores han encontrado que el exceso de zinc en el sustrato induce una reducción considerable en la producción de biomasa cuando las plantas del género *Brassica* se desarrollan en suelos contaminados con zinc, en relación con las plantas control (Gisbert *et al.*, 2006).

El análisis de la relación alométrica entre el peso seco de la raíz y el de la parte aérea no mostró diferencias significativas entre las plantas sometidas a concentraciones de 50 a 200 mg kg⁻¹ de zinc, pero sí hubo diferencia significativa ($P < 0,01$) entre los tres tratamientos evaluados que contenían zinc y las plantas control sin la adición del elemento, como se observa en la figura 3. La disminución en el valor de la relación fue

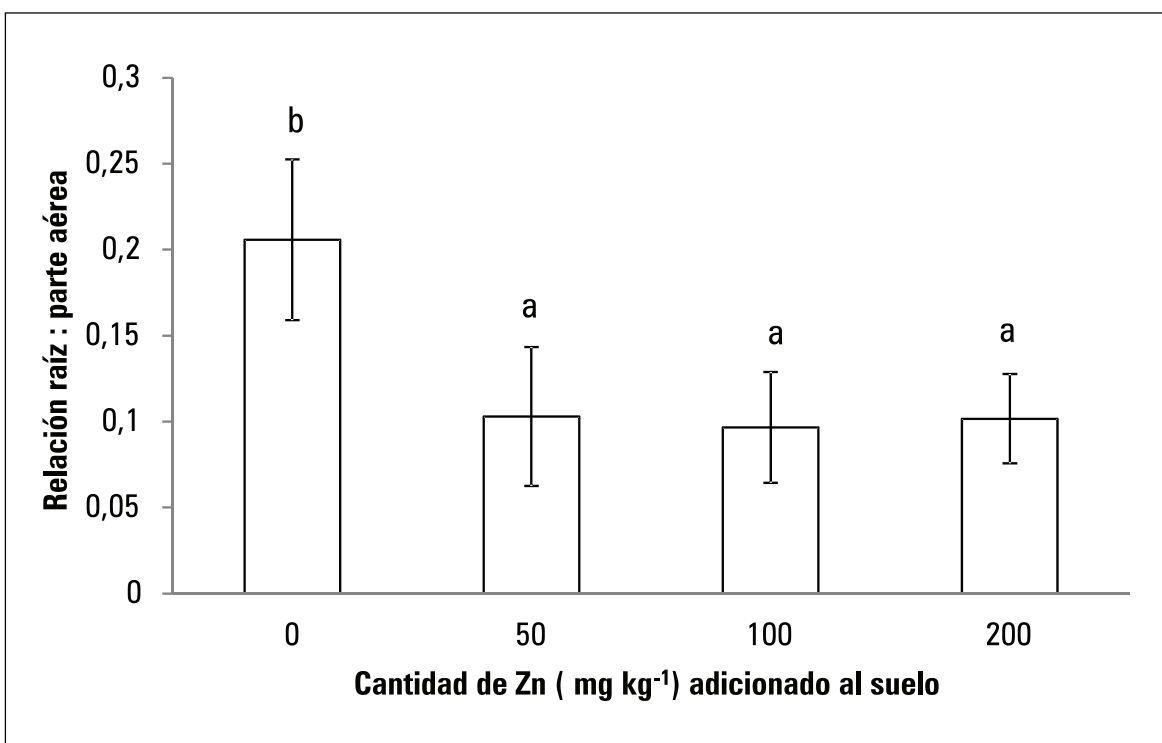


Figura 3. Relación raíz-parte aérea en plantas de brócoli sometidas a exceso de zinc en el suelo. Promedios con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

de 50, 55 y 50% en comparación con las plantas control, para los tratamientos con 50, 100 y 200 mg kg⁻¹ de zinc, lo que significa que contenidos de Zn entre 50 y 200 mg kg⁻¹ reducen a la mitad la materia seca de la raíz en comparación con plantas desarrolladas en suelo con una concentración del metal dentro del rango normal, lo que se corroborará con la asignación porcentual de masa seca a los diferentes órganos.

Varios parámetros, tales como la biomasa y la tasa de crecimiento de la parte aérea y de la raíz, se han utilizado con el propósito de evaluar la toxicidad por metales pesados en plantas (Baker y Walker, 1989). El comportamiento de los promedios en la figura 3, en las plantas afectadas por zinc, corresponde a la reducción en la acumulación de masa seca en las raíces, más que a cualquier otro parámetro de acumulación de masa seca en los órganos aéreos, con lo cual se asume que es el alto contenido de zinc en cada órgano el que causa la inhibición del crecimiento de estos. A pesar de esto, se ha reportado también que cuando las plantas de algunas especies del género *Brassica* se desarrollan en suelos altamente contaminados con zinc, ese metal se acumula preferiblemente en los tallos y en las hojas, más que en la inflorescencia, al momento de cosecha (Gisbert *et al.*, 2006).

Del Río *et al.* (2000) encontraron que el zinc se acumula en mayor proporción en los tallos y en las semillas de *Brassica carinata* y *B. juncea* desarrolladas en suelos contaminados con metales. Las especies vegetales difieren en su patrón de acumulación de metales en los diferentes órganos. Angelova *et al.* (2004) encontraron que en plantas de lino el contenido de zinc sigue el siguiente orden: raíces>tallos>hojas>flores; que en plantas de cáñamo la tendencia de la acumulación de zinc fue: flores>raíces>talles>hojas, y por último, en plantas de algodón el comportamiento del zinc en cuanto a su concentración en tejidos fue: hojas>raíces>flores>tallos, con lo cual se evidencia que la afectación de los tejidos en plantas que crecen bajo condiciones de exceso de zinc es altamente dependiente de la especie (Zheljaskov and Nielsen, 1996). Cuando las plantas del género *Brassica* se desarrollan en suelos altamente contaminados con zinc, ese metal se acumula preferiblemente en los tallos y

en las hojas, más que en la inflorescencia, al momento de cosecha (Gisbert *et al.*, 2006). Bajo estas premisas, se debe asumir que en el presente trabajo la acumulación de zinc se presentó en mayor grado en la raíces de las plantas de brócoli, puesto que ellas fueron los órganos más afectados por la presencia y concentración del metal. Sin embargo, también es posible inferir que las plantas de brócoli disponen de un mecanismo de compartimentación del metal muy eficiente, que les ayuda a disminuir los efectos nocivos del exceso del metal en los órganos del filopiano, puesto que se ha reportado que las plantas representantes del género *Brassica* se comportan como exclusoras de zinc, debido a que mantienen concentraciones bajas y constantes en la parte aérea, hasta una cierta concentración crítica en el suelo, por encima de la cual, los sistemas de transporte se alteran, dando como resultado el transporte del metal sin restricciones (Baker, 1981).

Al evaluar la distribución de la materia seca en los diferentes órganos de la planta se encontró que no hubo diferencia significativa en el porcentaje de materia seca asignada a la cabeza, a las hojas ni a los tallos; sin embargo, se presentaron diferencias significativas ($P<0,01$) para la materia seca asignada a las raíces entre todos los tratamientos sometidos a exceso de zinc y las plantas control, sin presentarse diferencia entre las plantas sometidas a tratamientos con zinc, como se observa en la figura 4.

En relación con este resultado, existen reportes que mencionan que en el tejido de la parte aérea la concentración de zinc en plantas del género *Brassica* está estrechamente relacionada con las concentraciones del metal en el suelo (Gisbert *et al.*, 2006). La toxicidad por zinc causa reducción en la elongación de las raíces y es muy frecuente que también cause clorosis en las hojas jóvenes, como consecuencia de la inducción de una deficiencia de Fe²⁺ (Woolhouse, 1983). El zinc también puede inducir deficiencia de manganeso (Ruano *et al.*, 1987) en plantas de frijol. Como ya se mencionó, la toxicidad por zinc inhibe la fotosíntesis en varias de sus etapas y a través de diferentes mecanismos. Mientras que en las membranas de los tilacoides en plantas que crecen en condiciones normales sin exceso de zinc, alrededor de seis átomos de manganeso y

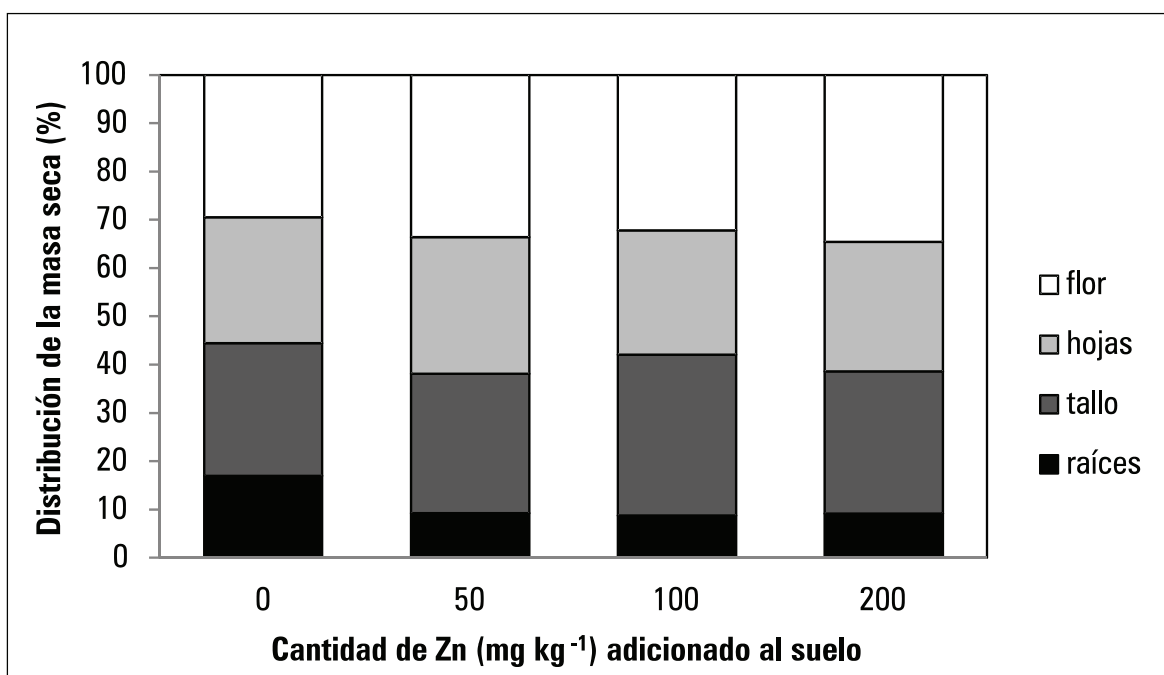


Figura 4. Distribución de la masa seca en los diferentes órganos en plantas de brócoli sometidas a exceso de zinc en el suelo.

de zinc están unidos por 400 moléculas de clorofila, bajo condiciones de toxicidad por zinc esta proporción se modifica a dos átomos de manganeso y 30 de zinc (Marschner, 1995). Bajo estos conceptos, se puede explicar el comportamiento de la distribución de la masa seca en los diferentes órganos de las plantas afectadas por el exceso de zinc.

La toma, el secuestro, el transporte y el almacenamiento de metales son los mecanismos más usuales utilizados por las plantas para la detoxificación del exceso de metales pesados en el suelo. En las últimas décadas, ensayos moleculares han revelado un número importante de transportadores responsables en la toma, transporte y almacenamiento del zinc en las plantas. La absorción de zinc desde el suelo está determinada por un grupo de transportadores pertenecientes a la familia ZIP, presumiblemente localizados en la membrana plasmática (Clemens, 2001). Por otro lado, se desconoce aún cuáles quelatores son los responsables del secuestro del zinc en el citosol, pero los ácidos orgánicos y algunos aminoácidos son posibles candidatos (Schat *et al.*, 2002). Para guardar el

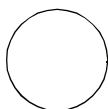
zinc en la vacuola parecen ser esenciales algunos transportadores localizados en el tonoplasto (Van der Zaal *et al.*, 1999).

Existe una clara diferencia entre monocotiledóneas y dicotiledóneas en relación con la distribución del zinc en la parte aérea. Es así como *Brassica napus* y *Trifolium repens* traslocaron la mayoría del zinc a las hojas, y menos al tallo, mientras que las gramíneas distribuyeron el metal de manera equitativa en los diferentes órganos; sin embargo, la diferencia desaparece a lo largo de la estación del crecimiento, debido a que las concentraciones de zinc en las hojas de plantas dicotiledóneas se reducen dependiendo de su posición en el tallo. De esta manera, la planta utiliza la estrategia de reducir las concentraciones internas del metal mediante la eliminación de hojas adultas que contienen altas concentraciones de zinc (Ernst, 1974).

Por último, las plantas de brócoli representan un modelo apropiado para evaluar la toxicidad por zinc en relación con las alteraciones inducidas por el exceso del metal sobre el crecimiento de

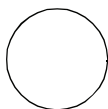
las plantas. Si bien es cierto la sola presencia del metal a partir de 50 mg kg^{-1} afectó el crecimiento de las plantas, estas disponen de mecanismos que les ayudan a mantener los órganos de la parte aérea prácticamente inalterados con contenidos de hasta 200 mg kg^{-1} de zinc en el suelo. No se debe olvidar que tanto el pH como el contenido

de materia orgánica en el suelo son factores determinantes de la posibilidad de toxicidad por zinc para las plantas, por tanto, se tuvo en cuenta que el suelo tomado para el ensayo tuviera un contenido de zinc dentro del rango normal, y el pH se encontraba en un valor que permitía la disponibilidad del elemento.



AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue desarrollado con el apoyo de la Dirección de Investigaciones (DIN) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, en el marco del plan de trabajo del Grupo de Investigación Ecofisiología Vegetal, adscrito al programa de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angelova, V.; R. Ivanova; V. Delibatova y K. Ivanov. 2004. Bioaccumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Ind. Crops Prod.* 19, 197-205.
- Almás, Á.R.; J. Mulder; P. Lombnaes y T.A. Sogn. 2006. Speciation of Cd and Zn in contaminated soils assessed by DGT-DIFS, and WHAM/Model VI in relation to uptake by spinach and ryegrass. *Chemosphere* 62, 1647-1655.
- Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.* 3, 643-654.
- Baker, A.J.M. y P.L. Walker. 1989. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chem. Spec. Bioavail.* 1, 7-17.
- Barceló, J. y Ch. Poschenrieder. 1999. Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. pp. 183-205. En: Prasad, M.N.V. y J. Hagemeyer (eds.). *Heavy metal stress in plants; from molecules to ecosystems*. Springer, Berlin.
- Basta, N.T. y S.L. McGowen. 2004. Evaluation of chemical immobilization treatments for reducing heavy metal transport in a smelter-contaminated soil. *Environ. Pollut.* 127, 73-82.
- Bellostas, N.; P. Kachlicki; J.C. Sorensen y H. Sorensen. 2007. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. *Sci. Hort.* 114, 234-42.
- Bermond, A. 1988. Modalitees de passage en solution des cations metalliques associes a la matrice organique dans different types de sols, Institut National Agronomique, Paris-Grignon.
- Blaylock, M.J.; D.E. Salt; S. Dushenkov; O. Zakharova; C. Gussman; Y. Kapulnik; B.D. Ensley e I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian Mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31, 860-865.
- Broadley, M.; M.J. Willey; J.C. Wilkins; A.J. M. Baker; A. Mead y P.J. White. 2001. Phylogenetic variation in heavy metal accumulation in angiosperms. *New Phytol.* 152, 9-27.

- Chagué-Goff, C. 2005. Assessing the removal efficiency of Zn, Cu, Fe and Pb in a treatment wetland using selective sequential extraction: a case study. *Water Air Soil Pollution* 160, 161-179.
- Chen S.B.; M.G. Xu; Y.B. Ma y J.C. Yang. 2007. Evaluation of different phosphate amendments on availability of metals in contaminated soil. *Ecotox. Environ. Safe* 67, 278-285.
- Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212, 475-486.
- Cobbett, C.S. 2000. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol.* 123, 825-32.
- Consejo Nacional de Política Económica y Social. 2008. Estrategia para la optimización y modernización del transporte de carbón por los puertos marítimos del municipio de Ciénaga y la Bahía Santa Marta. Documento Compes 3540. Departamento Nacional de Planeación, República de Colombia, Bogotá.
- Del Río, M.; R. Font; J. Fernández-Martínez; J. Domínguez y A. De Haro Bailón. 2000. Field trials of *Brassica carinata* and *Brassica juncea* in polluted soils of the Guadamar river area. *Fresenius Environ. Bull.* 9, 328-332.
- Ebbs, S.D. y L.V. Kochian. 1998. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Environ. Sci. Technol.* 32, 802-806.
- Ernst, W.H.O. 1974. *Schwermetallevegetation der Erde*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Alemania.
- Gisbert, C.; R. Clemente; J. N. Avino y C. Baixauli. 2006. Tolerance and accumulation of heavy metals by *Brassicaceae* species grown in contaminated soils from Mediterranean regions of Spain. *Environ. Exp. Bot.* 56, 19-27.
- Hettiarachchi, G.M.; G.M. Pierzynski y M.D. Ransom. 2000. *In situ* stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4614-4619.
- Jensen, P.E.; L.M. Ottosen y A.J. Pedersen. 2006. Speciation of Pb in industrially polluted soils. *Water Air Soil Pollution* 170, 359-382.
- Kabata-Pendias, A. 2001. Trace elements in soils and plants. 3a. ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kumar, P. B. A. N.; V. Dushenkov; H. Motto e I. Raskin. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1232-1238.
- Lee, M.K.; H.S. Kim; J.S. Kim; S.H. Kim y Y.D. Park. 2004. Agrobacterium mediated transformation system for large-scale production of transgenic Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. pekinensis) plants for insertional mutagenesis. *J. Plant Biol.* 47, 300-306.
- Mahuku, G.S.; R. Hall y P.H. Goodwin, 1996. Co-infection and induction of systemic acquired resistance by weakly and highly virulent isolates of *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49, 61-72.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Londres.
- Mench, M.; V. Didier; M. Loffler; A. Gómez y P. Masson. 1994. A mimicked *in-situ* remediation study of metal-contaminated soils with emphasis on Cd and Pb. *J. Environ. Qual.* 23, 58-63.
- Mench, M.; H. Vangronsveld; N. Clusters; W. Lepp y R. Edwards. 2000. *In situ* metal immobilization and phytostabilization of contaminated soils. En: Terry, N. y G. Banuelos (eds.). *Phytoremediation of contaminated soil and water*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Parkpain, P.; S. Sreesai y R. D. Delaune. 2000. Bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended Thai soils. *Water Air Soil Pollution* 122, 163-82.
- Prasad, M.N.V. y K. Strzalka. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. pp. 117-138. En: Prasad, M.N.V. y J. Hagemeyer (eds.). *Heavy metal stress in plants; from molecules to ecosystems*. Springer, Berlin.
- Radio Cadena Nacional. 2010. Explotación minera en Boyacá causa problemas ambientales. En: <http://www.rcnradio.com/noticias/locales/24-05-10/explotacion-minera-en-boyac-causa-problemas-ambientales>; consulta: septiembre de 2010.
- Raskin, I.; R.D. Smith y D.E. Salt. 1997. Phyto-remediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 221-226.

- Ruano, A.; J. Barceló y Ch. Poschenrieder. 1978. Zinc toxicity-induced variation of mineral element composition in hydroponical grown bush bean plants. *J. Plant Nutr.* 10, 373-384.
- Salt, D.E.; M. Blaylock; N.P.B.A. Kumar; V. Dushenkov; B.D. Ensley; I. Chet e I. Raskin. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnol.* 13, 468-474.
- Selim, H.M. y W.L. Kingery. 2003. Geochemical and hydrological reactivity of heavy metals in soils. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Schat, H.; M. Llugany; R. Vooijs; J. Hartley-Whitaker y P.M. Bleeker. 2002. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and nonhyperaccumulator metallophytes. *J. Exp. Bot.* 53, 2381-2392.
- Sharma, R.K.; M. Agrawal y F.M. Marshall. 2006. Heavy metals contamination in vegetables grown in wastewater irrigated areas of Varanasi, India. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 311-318.
- Sharma, R.K.; M. Agrawal y F.M. Marshall. 2007. Heavy metals contamination of soil and vegetables in suburban areas of Varanasi, India. *Ecotox. Environ. Saf.* 66, 258-266.
- Sharma, R.K.; M. Agrawal y F.M. Marshall. 2008a. Heavy metals (Cu, Cd, Zn and Pb) contamination of vegetables in Urban India: a case study in Varanasi. *Environ. Poll.* 154, 254-263.
- Sharma, R. K.; M. Agrawal y F. M. Marshall. 2008b. Atmospheric depositions of heavy metals (Cd, Pb, Zn, and Cu) in Varanasi city, India. *Environ. Monit. Assess.* 142 (1-3), 269-278.
- Singh, S. y M. Kumar. 2006. Heavy metal load of soil, water and vegetables in periurban Delhi. *Environ. Monitor. Assess.* 120, 71-79.
- Singh, K.P.; D. Mohon; S. Sinha y R. Dalwani. 2004. Impact assessment of treated/ untreated wastewater toxicants discharged by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in wastewater disposal area. *Chemosphere* 55, 227-25.
- Sinha, S.; A.K. Gupta; K. Bhatt; K. Pandey; U.N. Rai y K.P. Singh. 2006. Distribution of metals in the edible plants grown at Jajmau, Kanpur (India) receiving treated tannery wastewater: relation with physiochemical properties of the soil. *Environ. Monit. Assess.* 115, 1-22.
- Smical, A.-I.; V. Hotea; V. Oros; J. Juhasz y E. Pop. 2008. Studies on transfer and bioaccumulation of heavy metals from soil into lettuce. *Environ. Eng. Manage. J.* 7(5), 609-615.
- Sosa G., G. y E. Urrea R. 2010. Proyecto de «Vivienda Saludable» departamento de Boyacá. En: <http://www.uelbosque.edu.co/files/Archivos/Investigacion/Grupos/SaludyAmbiente/Pdf/EBSA.pdf>; consulta: septiembre de 2010.
- Steele, M.C. y J. Pichtel. 1998. Ex-situ remediation of a metal-contaminated Superfund soil using selective extractants. *J. Environ. Eng.* 124, 639-645.
- Theodoratos, L.; N. Papassiopi y A. Xenidis. 2002. Evaluation of monobasic calcium phosphate for the immobilization of heavy metals in contaminated soils from Lavrion. *J. Hazardous Materials B94*, 135-146.
- Thiyam, U.; A. Kuhlmann; H. Stockmann y K. Schwarz. 2004. Prospects of rapeseed oil by-products with respect to antioxidative potential. *CR Chim.* 7, 611-6.
- Van der Zaal, B.J.; L.W. Neuteboom; J.E. Pinas; A.N. Chardonnens; H. Schat; J.A.C. Verkleij y P.J.J. Hooykaas. 1999. Overexpression of a novel Arabidopsis gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation. *Plant Physiol.* 119, 223-232.
- Wang, B.; Z. Xie; J. Chen; J. Jiang y Q. Su. 2008. Effects of field application of phosphate fertilizers on the availability and uptake of lead, zinc and cadmium by cabbage (*Brassica chinensis* L.) in a mining tailing contaminated soil. *J. Environ. Sci.* 20, 1109-1117.
- WisBocka, M.; J. Krawczyk; A. Klink y L. Morrison. 2006. Bioaccumulation of heavy metals by selected plant species from uranium mining dumps in the Sudety Mts., Poland. *Polish J. Environ. Stud.* 15(5), 811-818.
- Woolhouse, H.I.V. 1983. Toxicity and tolerance in response of plant to metals. En: Lange, O.L.; P.S. Nobel; L.B. Osmond y H. Ziegler (eds.). *Encyclopedia of Plant Physiology, new series.* 12c(11), 246-300.

- Wu, Q.L.; Y.A Yang; Z.M. Xie y Y. Zhu. 2000. Microelement and biological health. Science and Technology Press of Guizhou, Guiyang, China. pp. 208-281.
- Yang, J.; D.E. Mosby; S.W. Casteel y R.W. Blancher. 2001. Lead immobilization using phosphoric acid in a smelter contaminated urban soil. Environ. Sci. Technol. 35, 3553-3559.
- Zhejzakov, V.D. y N.E. Nielsen. 1996. Studies on the effect of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Mn, Zn and Fe) upon the growth, productivity and quality of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) production. J. Essent. Oil Res. 8, 259-274