



EFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE OLIGOGALACTURÓNIDOS A PLÁNTULAS DE TOMATE (*Solanum Lycopersicum* L.) EN LA FITOEXTRACCIÓN DE COBRE DE SUELO CONTAMINADO

Effect of foliar application of oligogalacturonides to tomato plant (*Solanum Lycopersicum* L.) in the phytoextraction of copper from contaminated soil

Omar Cartaya^{1✉}, Fernando Guridi², Adriano Cabrera¹, Ana M. Moreno¹ y Yenisei Hernández¹

ABSTRACT. The oligogalacturonides mixture (Ogal), is a biostimulant obtained at National Institute of Agricultural Sciences (INCA). This product has a high proportion of ionizable functional groups, which allows the formation of bonds with heavy metals. In this work, tomato seedlings with Ogal were sprinkled with 5, 19, 20, 30 mg L⁻¹ concentrations, cultivated in an artificially contaminated soil, red ferralitic leachate type with 700 mg kg⁻¹ copper (Cu). At 35 days of germination, were evaluations the total pseudo copper content in soil (mg kg⁻¹), pH, as well as height (cm), root length (cm) and content of Cu (mg kg⁻¹) in the different organs of the plant. The results showed that the height and length root of the plants grew in a contaminated environment without the application of product suffered a significant decrease in relation to the control; however, in which the product was applied, this decrease was not as marked as the previous ones, obtaining the best results when doses of 20 mg L⁻¹ (dose 3 mL plant⁻¹) were applied. On the other hand, the extraction of Cu ions by tomato plant increased with the presence of the Ogal, mixture being more phytoextraction when 20 mg L⁻¹ (doses 3 mL plant⁻¹) were applied.

Key words: bioremediation, heavy metal, oligogalacturonides, chelates

INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados se debe fundamentalmente a acciones antropogénicas,

RESUMEN. La mezcla de oligogalacturónidos (Ogal), es un bioestimulante que se obtiene en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Este producto presenta una alta proporción de grupos funcionales ácidos ionizables, lo cual les permite la formación de enlaces con los metales pesados. En este trabajo se asperjaron plántulas de tomate con Ogal en concentraciones de 5, 19, 20, 30 mg L⁻¹, cultivadas en un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado Agrogénico contaminado artificialmente con 700 mg kg⁻¹ cobre (Cu). A los 35 días de la germinación se evaluó el contenido de cobre pseudo total en el suelo (mg kg⁻¹), el pH, así como la altura (cm), la longitud de la raíz (cm) y el contenido de Cu (mg kg⁻¹) en los diferentes órganos de la planta. Los resultados muestran que la altura y la longitud de la raíz de las plantas que crecieron en un medio contaminado sin la aplicación de producto sufrieron un descenso con relación al control; sin embargo, en las que se aplicó el producto, esta disminución no fue tan marcada como las anteriores, obteniéndose los mejores resultados cuando se aplican dosis de 20 mg L⁻¹ (dosis 3 mL planta⁻¹). Por otro lado, la extracción de iones Cu por las plántulas de tomate aumentó con la presencia de la mezcla de Ogal, siendo mayor su fitoextracción cuando se aplican dosis de 20 mg L⁻¹ (dosis 3 mL planta⁻¹).

Palabras clave: biorremediación, metales pesados, oligogalacturónidos, quelatos

toda vez que la industrialización acrecentada en el planeta, sin la valoración previa de criterios de sostenibilidad, ha devenido en el vertimiento hacia suelos agrícolas y aguas, de elevadas cantidades de residuales que sobrepasan el límite tolerable por los seres vivos y se han convertido en tóxicos bioacumulables que forman parte ya de la cadena trófica natural (1).

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700

²Departamento de Química, Universidad Agraria de La Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

✉ ocartaya@inca.edu.cu

En este sentido, Cuba, no ha estado exenta de esta problemática, ya que existen varias zonas donde por diversas razones no se logra la seguridad ambiental que se necesita. Por su contribución económica, el sector industrial cuenta con importantes industrias, que a pesar de ser necesarias desde el punto de vista económico, constituyen fuentes de contaminación ambiental y de posible repercusión en la seguridad alimentaria del país (2,3).

El cobre (Cu) es un metal esencial para el normal crecimiento y desarrollo de las plantas. Es un micronutriente que participa en numerosos procesos fisiológicos y un cofactor esencial para muchas metaloproteínas. Sin embargo, también es potencialmente tóxico y los problemas surgen cuando se encuentra en exceso en las células (4). El Cu plantea serios problemas debido a su amplio uso industrial (manufactura de muchos productos tales como amalgamas, esmaltes y pigmentos, reactivos para curtiembre, alguicidas, prótesis médicoquirúrgicas) y agrícola, ya que algunas aplicaciones de Cu como fungicida, puede suponer exposiciones a concentraciones elevadas (5).

Durante estos años, se ha desarrollado una gama amplia de tecnologías de limpieza para eliminar los metales tóxicos del agua y del suelo. Entré estas cabe destacar la biorremediación como una posible solución futura a muchos problemas de contaminación, debido a que son consideradas en todo el mundo una tecnología innovadora para el tratamiento de residuos tóxicos (6,7). Dentro de sus variantes, se encuentra la fitorremediación (8,9), que se basa en el empleo de plantas para limpiar ambientes contaminados, siendo la fitoextracción y la fitoestabilización las técnicas más aplicadas.

Además, se han utilizado reguladores del crecimiento en la fitorremediación con plantas, tales como auxinas y citoquininas para disminuir su contaminación por metales pesados; pues estos reguladores potencialmente incrementan la velocidad de crecimiento y la biomasa en plantas hiperacumuladoras (10). Así como agentes quelatantes como el EDTA y ácidos húmicos y fúlvicos.

En este sentido, el laboratorio de Productos Bioactivos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) obtuvo la mezcla de oligogalacturónidos (Ogal), bioestimulante que presenta una alta proporción de grupos funcionales ionizables, lo cual les permite la formación de enlaces con los metales pesados (11,12). Por lo que se trazó como objetivo evaluar el efecto de la aplicación foliar de una mezcla de Ogal en la absorción de cobre (Cu) del suelo por plántulas de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

CONTAMINACIÓN DE SUELO

Se recolectó suelo clasificado como Ferralítico Rojo Lixiviado (13), en los terrenos pertenecientes al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y se preparó una disolución $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en cantidad equivalente a 700 mg kg^{-1} (suelo) de Cu, añadiéndosela al suelo con siete días de antelación a la siembra (14,15). Se caracterizó el suelo contaminado y sin contaminar.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en el departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del INCA, en un cuarto de luces, manteniéndose en condiciones de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, 12 horas luz de fotoperíodo y una humedad relativa del 40 %, durante 35 días.

La mezcla de Ogal se obtuvo en el INCA, según la metodología propuesta por Cabrera^A y como planta hiperacumuladora se utilizaron semillas de tomate de la variedad Amalia (16), proveniente del Programa de Mejoramiento Genético del instituto, por su tolerancia e hiperacumulación de metales y generación de biomasa en el tiempo; las cuales fueron germinadas en macetas (9 cm de diámetro interno x 7 cm de altura), con una capacidad de 0, 2 kg de suelo. En la Tabla I se muestra la descripción de cada uno de los tratamientos.

Tabla I. Descripción de los tratamientos estudiados en el experimento

Tratamientos	Descripción de los tratamientos	
	Suelo	Ogal (mg L^{-1} (dosis 3 mL planta ⁻¹))
1	Normal	-
2	contaminado	-
3	contaminado	5
4	contaminado	10
5	contaminado	20
6	contaminado	30

La aspersión foliar se realizó a los 12 días de emergidas las plantas, mediante un micro asperjador de 100 mL de capacidad. Se utilizaron diez recipientes plásticos por cada tratamiento, se sembraron tres semillas por macetas y a los siete días de germinadas las semillas se dejó una planta en cada uno. Se realizaron tres repeticiones del experimento, con un diseño completamente aleatorizado y el riego se realizó a una dosis de 70 mL de agua cada dos días.

^ACabrera JC. Obtención de una mezcla de oligogalacturónidos a partir de corteza de cítrico [Tesis de Doctorado]. [Mayabeque]: INCA; 2000. 100 p.

A los 35 días de la germinación, se extrajeron las plantas y las raíces se lavaron con agua corriente y fueron colocadas en solución de CaCl_2 por 10 minutos, procurando retirar los metales adsorbidos en las paredes y posteriormente se lavaron con abundante agua desionizada.

Se evaluó la longitud de la raíz, la altura de las plantas y el contenido de Cu en la raíz y parte aérea de la planta.

MEDICIÓN DE LA LONGITUD RADICULAR Y ALTURA DE LAS PLANTAS

Altura de la planta (cm): las mediciones se hicieron desde la base del tallo hasta el brote de la hoja terminal, con la ayuda de una regla graduada de 1 mm de precisión.

Longitud de la raíz (cm): las mediciones se realizaron desde la base del cuello hasta la cofia de la raíz principal con la ayuda de una regla graduada de 1 mm de precisión.

MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LOS ELEMENTOS METÁLICOS

Caracterización de los suelos empleados

El pH se determinó por el método potenciométrico con una relación suelo: agua de 1: 2,5.

Para la determinación del contenido de Cu pseudo total, 0,5 g de las muestras fueron digeridas con 4 mL de HCl/HNO_3 (3:1) (v/v) en un horno de microondas, y la concentración de Cu, fue determinada por absorción atómica.

Contenido de Cu en plantas

Tanto la parte aérea como la raíz de cada planta fueron secadas en estufa de circulación forzada de aire a 70 °C por 72 h y se pesaron en una balanza analítica hasta obtener peso constante. Posteriormente se tomaron 0,5 g de muestra seca y molinada de la parte aérea y de la raíz respectivamente con un tamaño de 60 Mesh y se adicionaron 4 mL de HNO_3 concentrado. La digestión se realizó en un horno de microondas. Se trasvasaron a recipientes de vidrio y fueron diluidas con 20 mL de agua destilada, se filtraron y se procedió a determinar la cantidad de Cu en el sobrenadante mediante un espectrofotómetro de absorción atómica en un equipo NovAA 350 con LD (mg kg^{-1}) de 0,01 para Cu (17).

Los resultados se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, en caso de diferencias significativas, las medias se compararon según la prueba de Tukey ($p < 0,05$) (18). Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.0 para Windows (19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar las características del suelo normal y el que se contaminó artificialmente (Tabla II), el contenido de Cu biodisponible en el suelo contaminado fue de 650 mg kg^{-1} , lo que representa un nivel alto de contaminación para el Cu según los resultados obtenidos en otra investigación al determinar el contenido de metales en suelos Ferralíticos con baja actividad antrópica (20).

Tabla II. Propiedades químicas- física de los suelos

Indicadores	Tratamientos	
	Suelo Natural	Suelo Contaminado
Cu (mg Kg^{-1})	45,54±0,02	650,28±0,05
pH	7,4±0,1	3,6±0,1

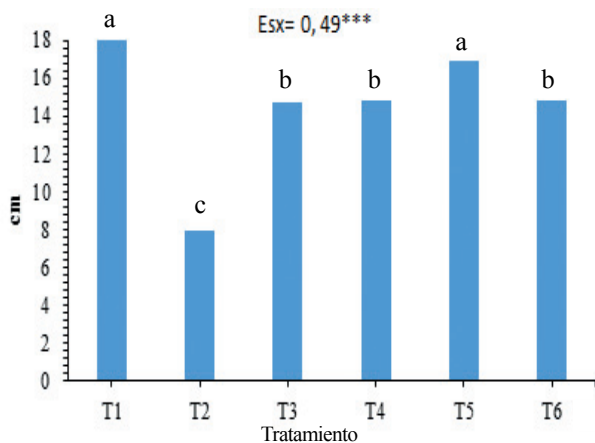
Es notable el cambio presentado en la magnitud del pH al comparar el suelo normal y el contaminado, ya que al contaminarlo los valores de pH cambian desde el neutro a valores ácidos, lo que puede influir notablemente en la fertilidad del suelo (21).

Este aspecto es muy importante, ya que a valores de pH cercanos a siete los macronutrientes tienen una elevada movilidad en el suelo y una mayor tasa de asimilación por las plantas; mientras que, la adsorción de los metales pesados por las mismas se ve limitada.

En otros estudios se plantea que los valores de pH bajos del suelo contaminado (22), favorecen la absorción de niveles extremadamente excesivos o tóxicos de metales, fenómeno que se ha comprobado en plantas de teca (*Tectona grandis*) desarrolladas en sustratos con pH ácido.

Estos valores de pH son de vital importancia, debido a que a valores de pH superiores a 3,8 los protones de los grupos carboxílicos de la mezcla de Ogal se encuentran completamente disociados y se facilita el enlace con los iones metálicos presentes en el suelo, como se demostró al realizar el estudio de la influencia del pH en la sorción de iones metálicos (23).

Al analizar la altura de las plantas de tomate cultivadas en un suelo natural contaminado (Figura 1), se observan diferencias significativas entre las plantas controles (T1) y las que crecieron en el medio contaminado sin la aplicación foliar de la mezcla de Ogal. Sin embargo, al analizar el comportamiento de las plantas que crecieron en un medio contaminado sin la aplicación de la mezcla de Ogal (T2) con las que crecieron en el medio contaminado con la aplicación de este, estas mostraron mayor crecimiento, lo que demuestra el efecto de la contaminación de los iones metálicos en el crecimiento en altura de las plantas y la atenuación de este efecto como consecuencia de la aspersión foliar de la mezcla de Ogal.



T1 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)
 T2 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 T3 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 5 mg L⁻¹
 T4 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 10 mg L⁻¹
 T5 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 20 mg L⁻¹
 T6 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 30 mg L⁻¹
 *Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey
 para p≤0,05

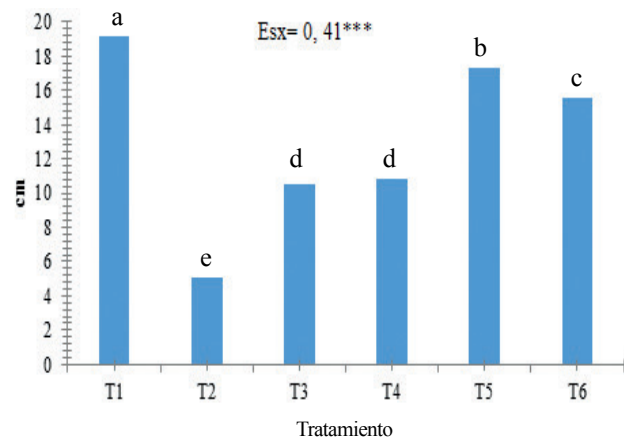
Figura 1. Altura de las plantas de tomate cultivadas en un suelo contaminado y tratadas con diferentes concentraciones de la mezcla de Ogal

Además cuando se aplica la mezcla de Ogal, se observa una tendencia a una mayor altura en las plantas donde se aplicó la misma a una concentración de 20 mg L⁻¹, llegando a ser significativamente igual a las plantas que crecieron en un suelo natural sin contaminación artificial.

En la Figura 2 se muestra el efecto del Cu en la longitud de la raíz de plántulas de tomate tratadas con la mezcla de Ogal. De forma general se observan diferencias en la longitud radical de las plantas que crecieron en un medio sin contaminación (T1) con relación a las que crecieron en contacto con el ion Cu.

Sin embargo, entre ellas se puede apreciar que hubo una tendencia a la disminución de la longitud radical en las plantas que crecieron en contacto con el Cu sin aplicación previa de estos compuestos (T2), presentando diferencias con relación a aquellas que recibieron tratamiento con el producto.

Los resultados obtenidos corroboran el efecto atenuante de la mezcla de Ogal, pues con todos los tratamientos empleados al menos se duplicó la longitud de la raíz con respecto a T2. En el caso de la aspersión con la mezcla de Ogal a una concentración de Ogal 20 mg L⁻¹ (dosis 3 mL planta⁻¹) las plantas lograron una longitud de la raíz significativamente inferior a las que crecieron en el suelo sin contaminación.



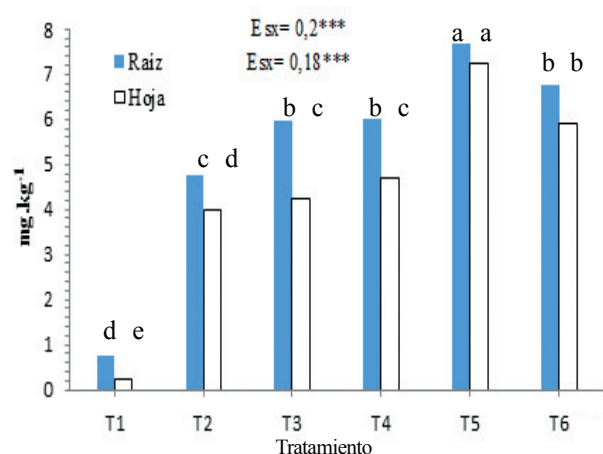
T1 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)
 T2 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 T3 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 5 mg L⁻¹
 T4 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 10 mg L⁻¹
 T5 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 20 mg L⁻¹
 T6 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado
 aspersión foliar Ogal 30 mg L⁻¹
 *Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey
 para p≤0,05

Figura 2. Longitud de la raíz de las plántulas de tomate cultivadas en un suelo contaminado y tratadas con diferentes dosis de la mezcla de Ogal

En la Figura 3 se presentan los resultados de las evaluaciones del contenido de iones Cu en las raíces y hojas de las plantas de tomate por efecto de la aplicación de la mezcla de Ogal foliar. La aplicación de la mezcla de Ogal influyó de forma positiva en el incremento de la concentración de Cu en la raíz y en la parte aérea, alcanzando las plantas desarrolladas en el suelo contaminado y tratadas con el producto, contenidos superiores de metales en sus órganos al encontrado en las plántulas desarrolladas en el suelo normal (T1) y en el suelo contaminado sin la aplicación del producto (T2).

Al analizar el contenido de metales en los diferentes órganos en las plántulas asperjadas con la mezcla de Ogal, los mayores niveles se encontraron cuando se aplica a una concentración de 20 mg L⁻¹ tanto en las raíces como en la parte aérea.

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros investigadores (24), quienes plantean que los metales principalmente se almacenan en el sistema radical en comparación con las partes aéreas, ya que primero es absorbido por las raíces y posteriormente es translocado a la parte aérea. En otro estudio (25), se demostró que el contenido de metales en varios órganos de una planta decrece en el siguiente orden: raíz > hojas > tallo > inflorescencias > semillas. Sin embargo, este orden puede variar de acuerdo a la especie de planta.



T1 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo sin contaminar (Control)

T2 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado

T3 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado aspersión foliar Ogal 5 mg L⁻¹

T4 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado aspersión foliar Ogal 10 mg L⁻¹

T5 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado aspersión foliar Ogal 20 mg L⁻¹

T6 Semillas embebidas 4 horas en agua, suelo contaminado aspersión foliar Ogal 30 mg L⁻¹

*Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey para $p \leq 0,05$

Figura 3. Niveles de iones Cu(II) en las raíces y hojas de las plantas de tomate tratadas con diferentes concentraciones de la mezcla de Ogal

Según los resultados obtenidos, la aplicación de la mezcla de Ogal a una concentración de 20 mg L⁻¹ (T5) ha proporcionado efectos beneficiosos, porque favorece el crecimiento foliar y radicular de las plantas de tomate cultivadas en un medio contaminado debido a la promoción del crecimiento vegetal, y entre otras causas al alargamiento celular y la estimulación de la división celular, como uno de los múltiples efectos fisiológicos que producen en las plantas la mezcla de Ogal (26). Por otra parte, en otro estudio se ha explicado que este aumento en el crecimiento se debe a un incremento de esqueletos carbonados (27), que pueden ser utilizados para la síntesis de nuevos compuestos, por lo que este mayor desarrollo vegetativo de las plantas posibilita una mayor remoción de iones Cu, aumentando su contenido en hojas y raíces.

Evidentemente, los resultados indican que las concentraciones de metales pesados presentes en el suelo, aun cuando sobrepasan los límites permisibles generales no resultan ser letales para las plantas, ya que no se evidenciaron efectos fitotóxicos visibles, por lo que se puede expresar que las mismas han desarrollado mecanismos de acumulación y detoxificación interna, que significa la neutralización del exceso de metal a nivel intra-celular gracias a la

inducción de defensas antioxidantes que le permiten subsistir en estas condiciones de estrés abiótico, como plantean otros investigadores (28).

CONCLUSIÓN

Al aplicar la mezcla de Ogal a 20 mg L⁻¹ (dosis 3 mL planta⁻¹) se logran niveles de extracción de iones Cu por las plántulas de tomate completas de 14,93 mg kg⁻¹, lo que favorece el proceso de fitoextracción de este ion metálico por plantas hiperacumuladoras.

RECOMENDACIONES

La aplicación foliar de la mezcla de Ogal modifica la biodisponibilidad de los iones metálicos en el suelo, además las plantas de tomate pueden participar en el proceso de fitoextracción en suelos contaminados por su tolerancia e hiperacumulación de metales y formación de biomasa en el tiempo; siempre y cuando se lleve a cabo una disposición final ambientalmente adecuada y se prevenga su consumo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chrastný V, Komárek M, Procházka J, Pechar L, Vank A, Peníek V, Farka J. 50 years of different landscape management influencing retention of metals in soils. *Journal of Geochemical Exploration*. 2012;115:59-68.
2. García D, Olivares S, Santana J, Lima L, Ruiz L, Calderón P, Ávila I. Evaluación de riesgos a la salud por exposición a metales pesados en cercanías de sitios potencialmente peligrosos con actividad agrícola. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*. 2012;13(1):10-8.
3. Díaz O, Lima L, García D, D'Alessandro K, Torres O, Olivares S, Blanco Y. Assessment of heavy metal content in urban agricultural soils from the surrounding of steel-smelter plant using X-ray fluorescence. *Nucleus*. 2015;57:38-43.
4. Yruela I. Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2005;17:145-56.
5. Riedel GF. Copper. In: Jørgensen SE, Fath BD, editors. *Encyclopedia of Ecology* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2008 [cited 2017 May 7]. p. 778-83. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080454054003803>
6. Barcelo J. Perspectivas actuales de la fitorremediación. *Anuari Reail. Academia de Catalunya*. 2003;47:13- 45.
7. Balderas L, Sánchez Y. Biorremediación of soil polluted by 75000 ppm of waste motor oil applying biostimulation and phytoremediation with *Sorghum vulgare* and *Bacillus cereus* or *Burkholderia cepacia*. *J. Selva Andina Res. Soc.* 2015;6(1):23-32.
8. Delgadillo A, González C, Prieto F, Villagómez J, Acevedo O. Phytoremediation: an alternative to eliminate pollution. *Trop. subtrop. Agroecosyst*. 2011;14(2):56- 62.

9. García E, García E, Juárez LF, Juárez L, Montiel J, Gómez M. La respuesta de haba (*Vicia faba*, L.) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 2012;28(2):119-26.
10. Navarro JP, Aquilar IA, López-Moya JR. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas.* 2007;4(2):1- 17.
11. Elmachliy S, Chefetz B, Tel-Or E, Vidal L, Canals A, Gedanken A. Removal of silver and lead ions from water wastes using *Azolla filiculoides*, an aquatic plant, which adsorbs and reduces the ions into the corresponding metallic nanoparticles under microwave radiation in 5 min. *Water, Air, and Soil Pollution.* 2011;218(4):365-70.
12. Ninan N, Muthiah M, Park IK, Elain A, Thomas S, Grohens Y. Pectin/ carboxymethyl cellulose/ microfibrillated cellulose composite scaffolds for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers.* 2013;98:877-85.
13. Hernández JA, Pérez JJM, Bosch ID, Castro SN. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2015. 93 p.
14. Lei S, Han-qiao L, Guo-xia W, Zhen-hua W, Wei Y. Removal of Heavy Metals from Contaminated Soils by Washing with Citric Acid and Subsequent Treatment of Soil-washing Solutions. *Advanced Materials Research.* 2014;937:646-51.
15. Fánor P, Poveda J. La toxicidad por exceso de Mn y Zn disminuye la producción de materia seca, los pigmentos foliares y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria sp.* cv. Camarosa). *Agronomía Colombiana.* 2005;23(2):283-9.
16. Frederick A, Ching JA. Phytoremediation Potential of Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill). In: Artificially Contaminated Soils DLSU Research Congress. Manila, Philippines: de La Salle University; 2014.
17. Hernández HJM, Olivares SE, Villanueva FI, Rodríguez FH, Vázquez AR, Pisan ZJF. Aplicación de lodos residuales, estiércol bovino y fertilizante químico en el cultivo de sorgo forrajero. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2005;21:31-6.
18. Tukey JW. Bias and confidence in not quite large samples. *The Annals of Mathematical Statistics.* 1958;29(2):614-23.
19. Statistical Graphics Crop. STATGRAPHICS® Plus [Internet]. 2000. (Profesional). Available from: <http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>.
20. Reyes R, Pierre G, Guridi F, Valdés R. Disponibilidad de metales pesados en suelos Ferralíticos con baja actividad antrópica en San José de las Lajas, Mayabeque. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias.* 2014;23(3):37-40.
21. Muñiz O, Arozarena N, Grun M. Contenido de Cd, Pb, Cu, Zn, Ni y Cr en los principales suelos cubanos. In: I Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo. La Habana, Cuba. 1988. p. 224.
22. Moya R, Arce V, González E, Olivares C, Rios V. Efecto de las propiedades físicas y químicas del suelo en algunas propiedades de la madera de teca (*Tectona grandis*). *Rev. Árvore.* 2010;34(6):153-61.
23. Cartaya O, Inés R, Peniche C, Garrido ML. Empleo de polímeros naturales como alternativa para la remediación de suelos contaminados por metales pesados. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 2011;27(1):41-6.
24. Sharma RK, Agrawal M, Marshall FM. Heavy metals (Cu, Cd, Zn and Pb) contamination of vegetables in Urban India: a case study in Varanasi. *Environment Pollution.* 2008;154:254-63.
25. Nielsen M, Bruhn A, Rasmussen M, Olesen B, Larsen M, Møller H. Cultivation of *Ulva lactuca* with manure for simultaneous bioremediation and biomass production. *Journal Applcate Phycology.* 2012;24:449-58.
26. Falcón A, Costales D, González-Peña D, Nápoles M. Nuevos productos naturales para la agricultura: Las oligosacarinas. *Cultivos Tropicales.* 2015;36(Suppl.):111-29.
27. Izquierdo H. Evaluación de un oligogalacturónido de origen natural y ecológico en la micropropagación y producción sostenible de Plátanos y Bananos. La Habana, Cuba: Informe Final del Proyecto del programa del MINAG: producciones ecológicas; 2008.
28. Rodríguez PH, Gincchio R, Badilla-Ohlbaum R, Allen HE, Lagos GE. Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environment Toxicology Chemistry.* 2012;21(4):1736-44.

Recibido: 7 de septiembre de 2016

Aceptado: 14 de marzo de 2017