UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

“EFECTO DE CIPROFLOXACINO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE ALFALFA (*Medicago sativa*)”.

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. Tatiana Edith Laura Ponce

Para obtar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

ILO – PERÚ

2021

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Folio **Nº 006**

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

Tesis : [X]
Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]
Otro: ..... : [ ]

II. Documento de aprobación para la sustentación:

Resolución de la Facultad N°0073-2021-FCIA

Fecha: 12/11/2021

III. El jurado ha dictaminado la (el) Tesis, TITULADO:

Efecto del ciprofloxacino sobre la producción de biomasa de alfalfa (medicago sativa)

Bachiller: Tatiana Edith Loura Ponce

Asesor Principal: Franz Sirena Vilca

Co-Asesor: Marco Vera Zuñiga

IV. Se dictamina:

Como: Aprobado por Unanimidad la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: Quince (15) por lo que; Sí [X] No [ ]

Opta el Título Profesional de INGENIERO AMBIENTAL.

Siendo las 12:50 horas, del 12 de Noviembre del año 2021 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Presidente

Mg. José Antonio Valeriano Zapana
Primer Miembro

Segundo Miembro

Bachiller

DEDICATORIA

Para mi madre Judith Irene por ser la mujer fuerte y valiente que a pesar todo lo vivido, decidió dar lo mejor sí misma para sacar adelante a sus hijos, y para mi padre Edgar Salas por haberme hecho parte de su historia desde el día en que me conoció.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Moquegua por hacer posible el financiamiento de esta tesis con fondos del Canon minero y regalías, mediante concurso de Proyectos a nivel docente.

A la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, a todos los docentes que fueron los actores principales en mi desarrollo académico.

Al asesor, Franz Zirena Vilca, por haberme guiado en cada etapa del desarrollo de esta tesis, y por mostrarme el hermoso y desafiante camino de hacer ciencia.

Al Dr. Valdemar Luiz Tornisielo, por haberme permitido ejecutar este Proyecto en el Laboratorio de Ecotoxicología en el CENA – USP.

A mis familiares, colegas y amigos por su apoyo incondicional y aliento para seguir adelante.

RESUMEN

El presente estudio evaluó el impacto del uso de agua de riego contaminado con residuos de ciprofloxacino sobre la biomasa de alfalfa (*Medicago Sativa*); para ello, se usó un suelo de la capa superficial procedente de Piracicaba, SP, Brasil (22°42'49''S, 47°37'12"O), el pH del suelo fue ajustado a niveles de neutralidad, las semillas de alfalfa (*Medicago sativa*) empleadas fueron inoculadas con *Rizhobium sp*, se utilizaron 12 maceteros distribuidos en 3 tratamientos con 3 repeticiones con 3 testigos, el experimento fue conducido en una cámara de crecimiento de plantas con condiciones controladas, durante 40 días se realizaron 6 riegos con agua tipo 2 contaminadas con ciprofloxacino en las concentraciones de: 1, 10 y 100 µg L^{-1} respectivamente. Los resultados muestran que la presencia de Ciprofloxacino con concentraciones de 1, 10, y 100 µg L^{-1}, disminuye la fijación de carbono en los tallos y hojas del cultivo de alfalfa en 2.5%, 5.3 % y 8.9 % respectivamente; asimismo, disminuye el número de nódulos en raíz del cultivo de alfalfa en 70 %, 59 % y 95 % respectivamente, por otro lado las concentraciones de 10, y 100 µg L^{-1}, disminuye la longitud radicular del cultivo de alfalfa en 31.60 % y 41.23 % respectivamente; no obstante, la concentración de 1µg L^{-1} no tuvo efectos significativos en la disminución de longitud radicular del cultivo de alfalfa; por otra parte, la presencia de Ciprofloxacino, no tuvo efectos significativos en la disminución de la concentración de nitrógeno en suelo y la producción de biomasa aérea.

Palabras claves: Biomasa, contaminantes, carbono, suelo, planta

ABSTRACT

The present study evaluated the impact of the use of irrigation water contaminated with ciprofloxacin residues on alfalfa (*Medicago Sativa*) biomass; For this purpose, surface layer soil from Piracicaba, SP, Brazil (22°42'49"S, 47°37'12 "W) was used, the soil pH was adjusted to neutral levels, the alfalfa (*Medicago sativa*) seeds used were inoculated with *Rizhobium sp*, 12 pots were used distributed in 3 treatments with 3 replicates with 3 controls, the experiment was conducted in a plant growth room with controlled conditions, during 40 days 6 irrigations were carried out with type 2 water contaminated with ciprofloxacin in concentrations of: 1, 10 and 100 µg L^{-1} respectively.

The results show that the presence of Ciprofloxacin with concentrations of 1, 10, and 100 µg L^{-1}, decreases the carbon fixation in the stems and leaves of alfalfa crop by 2.5%, 5.3 % and 8.9 % respectively; it also decreases the number of root nodules in the alfalfa crop by 70 %, 59 % and 95 % respectively, on the other hand the concentrations of 10, and 100 µg L^{-1}, decreases the root length of alfalfa crop by 31. 60 % and 41.23 % respectively; however, the concentration of 1µg L^{-1} had no significant effect on the decrease of root length of alfalfa crop; on the other hand, the presence of Ciprofloxacin had no significant effect on the decrease of nitrogen concentration in soil and aerial biomass production.

Keywords: Biomass, contaminants, carbon, soil, plant.

ÍNDICE GENERAL

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 15

1.1 Descripción y formulación del problema 15

1.2 Objetivos 16

1.2.1 Objetivo general 16

1.2.2 Objetivo especifico 17

1.3 Justificación e importancia 17

II. MARCO TEORICO 18

2.1 Antecedentes 18

2.2 Bases teóricas sobre la investigación 20

2.2.1 Antibióticos 20

2.2.2 Ciprofloxacino 20

2.2.3 Propiedades farmacológicas 21

2.2.4 El suelo y sus interacciones 23

2.2.5 Aguas residuales 24

2.2.6 Cultivo de alfalfa 26

III. METODO 35

3.1 Tipo y nivel de investigación 35

3.2 Ámbito temporal y espacial 35

3.3 Procedimiento 36

3.3.1 Preparación de suelo 36

3.3.2 Ajuste de pH 37

3.3.3 Instalación de experimento 38

3.3.4 Frecuencia de riego 39

3.3.5 Determinación de nódulos 40

3.3.6 Determinación de longitud radicular 42

3.3.7 Determinación de masa aérea y radicular 42

3.3.8 Determinación de carbono y nitrógeno 43

3.3.9 Análisis de datos 44

IV. RESULTADOS 45

4.1 Prueba de ANOVA 45

4.1.1 Nódulos en raíz 45

4.1.2 Contenido de carbono en tallos y hojas 49

4.1.3 Contenido de carbono en Raíz 53

4.1.4 Longitud aérea 56

4.1.5 Longitud radicular 59

4.1.6 Nitrógeno en suelo 64

V. DISCUSIÓN 68

5.1 Contenido de carbono en tallos y hojas 68

5.2 Longitud de raíz 69

5.3 Numero de nódulos en raíz 72

5.4 Biomasa aérea y Nitrógeno 74

VI. CONCLUSIONES 75

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 77

VIII. ANEXOS 91

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Producción Agrícola de la Región Moquegua 2017 27

Tabla 2 Resultados de Tratamiento con concentraciones de 1, 10 y 100 µg L^{-1} de Ciprofloxacino. 45

Tabla 3 Prueba de Normalidad para número de nódulos 45

Tabla 4 Prueba de homocedasticidad de varianzas para número de nódulos. 46

Tabla 5 ANOVA de 1 factor para el efecto de Ciprofloxacino sobre la biomasa nódulos de raíz. 47

Tabla 6 Subconjuntos homogéneos de nódulos en raíz. 49

Tabla 7 Prueba de Normalidad en concentración de carbono en tallos y hojas. 49

Tabla 8 Homogeneidad de Varianzas Hojas Tallos carbono 50

Tabla 9 ANOVA de un factor sobre el contenido de hojas en carbono.... 51

Tabla 10 Subconjuntos homogéneos prueba de Duncan 52

Tabla 11 Prueba de normalidad para carbono en raíz. 53

Tabla 12 Prueba de homocedasticidad de varianzas. 54

Tabla 13 ANOVA cantidad de carbono en raíz 55

Tabla 14 Prueba de normalidad longitud aérea 56

Tabla 15 Prueba de homogeneidad de varianzas 57

Tabla 16 ANOVA para el efecto de Ciprofloxacino sobre longitud aérea 58

Tabla 17 Prueba de normalidad Longitud radicular 60

Tabla 18 Homogeneidad de varianzas 61

Tabla 19 ANOVA para el efecto de Ciprofloxacino sobre la Longitud radicular. 62

Tabla 20 Pruebas post hoc Subconjuntos homogéneos 63

Tabla 21 Pruebas de normalidad para nitrógeno en suelo 64

Tabla 22 Prueba de homogeneidad de varianzas nitrógeno en suelo 65

Tabla 23 Tabla ANOVA de un factor de cantidad de nitrógeno en suelo. 66

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura química del Ciprofloxacino..... 22

Figura 2 Mecanismo de acción de las quinolonas**.....** 22

Figura 3 *Germinación de la semilla de alfalfa:* 29

Figura 4 *Primeras etapas de desarrollo vegetativo: cotiledonal y hoja unifoliada.* 30

Figura 5 *Tallos de alfalfa con nudos desde donde salen las hojas trifoliadas.* 31

Figura 6 *Fases iniciales de la formación de la corona en plantas de 4 meses* 32

Figura 7 *Hojas trifolioladas de alfalfa: espatulados y lineales.* 33

Figura 8 *Vista general de un tallo de alfalfa en estadio de madurez*..... 34

Figura 9 *Vista general de un rebrote de alfalfa en estadio de madurez 1; y detalle de nuevas hojas a partir de las yemas axilares.* 34

Figura 10 *Localización de Piracicaba en Brasil, en el Estado de Sao Paulo.* 36

Figura 11 *Preparación de suelo, Tatiana Laura y Franz Zirena realizando la mezcla de suelo y sustrato.*..... 37

Figura 12 *Diagrama de Flujo de la metodología.* 39

Figura 13 *Instalación de Experimento*..... 39

Figura 14 *Irrigación de experimento*..... 40

Figura 15 *Análisis de nódulos* 41

Figura 16 *Conteo de nódulos con lente de aumento*..... 41

Figura 17 *Medición de raíz* 42

Figura 18 *Separación de suelo y planta* 43

Figura 19 *Pesado de raíz* 43

Figura 20 *Gráfico de numero de nódulos* 48

Figura 21 *Gráfico de carbono en hojas y tallo* 52

Figura 22 *Gráfico de carbono en raíz* 55

Figura 23 *Gráfico de longitud aérea* 58

Figura 24 *Gráfico de longitud radicular* 62

Figura 25 *Gráfico de concentración de nitrógeno en suelo* 66

Figura 26 *Instalación de experimento* 91

Figura 27 *Plantas emergiendo de la nueva siembra* 91

Figura 28 *Raleo de siembra* 92

Figura 29 *Primera aplicación de producto* 92

Figura 30 *Segunda aplicación de producto* 93

Figura 31 *Tercera aplicación del producto* 93

Figura 32 *Cuarta aplicación del producto* 94

Figura 33 *Quinta aplicación del producto* 94

Figura 34 *Sexta aplicación del producto* 94

Figura 35 *Verificación de la presencia de nódulos en el testigo.* 95

Figura 36 *Alfalfa día de cosecha de experimento* 95

Figura 37 *Separación de raíz del suelo* 96

Figura 38 *Medición de raíz* 96

Figura 39 *Medición desde la base del tallo hasta la punta de las hojas* .. 97

Figura 40 *Comparación de tratamiento y testigo* 97

Figura 41 *División de planta y raíces por corte* 97

Figura 42 *Conteo de nódulos* 98

Figura 43 *Tamizado de suelo para análisis de nitrógeno* 98

Figura 44 *Muestras de alfalfa colocadas a la estufa por 24 horas* 99

Figura 45 *Sobres para muestras procesadas* 99

Figura 46 *Proceso de molienda de raíz para análisis de carbón* 100

Figura 47 *Tamizado de hojas y raíz a 2 mm* 100

Figura 48 *Lugar del experimento.* 102

INTRODUCCION

Los antibióticos son medicamentos usados para prevenir o tratar enfermedades infecciosas, suelen tener un bajo costo y fácil disponibilidad, las personas al ingerir antibióticos, metabolizan cierta cantidad y posteriormente se eliminan del cuerpo en las heces y orina, estos residuos pasan a pertenecer a las aguas residuales, debido a la poca cantidad de agua que se tiene para satisfacer las necesidades de las personas, se requiere la reutilización del agua, los tratamientos que se usan en las plantas de tratamiento de agua residual no eliminan los antibióticos que se encuentran en ellas, dando como resultado la disposición de agua con contenido de antibiótico para las actividades productivas, recreativas y básicas del ser humano.

El agua contaminada con antibióticos en muchos casos es usada para producción agrícola debido al desconocimiento de su presencia en el agua usada, y vienen siendo reportados impactos en los procesos bioquímicos que ocurren en el suelo, en la cantidad y variedad de microorganismos que la habitan y las funciones que desempeñan en los ciclos.

Es por ello, que se evaluó el efecto de Ciprofloxacino sobre la producción de biomasa aérea y radicular, contenido de carbono total en hojas y tallo, número de nódulos de la planta y asimismo el contenido de nitrógeno en suelo.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción y formulación del problema

Los antibióticos son consumidos para prevenir y tratar enfermedades de infección bacteriana, pero su continua prescripción y uso en exceso, lo hace un peligro a largo plazo (Payton and Brunetti 2021). Sólo en el 2015 se ha reportado el consumo de 1 000,000 - 2 000,000 de toneladas por año a nivel mundial (CCPEEU, 2015), incrementándose el consumo en un 36 %, debido a su uso intensivo en animales y humanos ha surgido la resistencia bacteriana, llegando a reducir la eficacia del tratamiento de enfermedades infecciosas, (Marion et al. 2021) se estima que para el 2050, morirán 10 millones de personas cada año debido este problema (OMS 2018).

Los antibióticos tienen la capacidad de afectar la población objetivo y no objetivo (microorganismos patógenos), ocasionando impactos de toxicidad (Grenni, Ancona, and Barra Caracciolo 2018); así mismo, su presencia en el medio edáfico provoca la reducción de forma cuantitativa de bacterias que contribuyen a la calidad del suelo (Ding et al. 2014), se ha reportado la disminución de la diversidad de microorganismos que participan en la nitrificación del suelo (Ollivier et al. 2013), los suelos irrigados con agua residual con contenido de antibióticos, facilitan la aparición y acumulación de genes de resistencia a los antibióticos (ARG)(Pan and Chu 2018), esta resistencia se da en bacterias relacionadas a la reducción de nitratos (Hou et al. 2015), en consecuencia las tasas de nitrificación, oxidación de amonio y la reducción de nitrato a amonio disminuyen por la inhibición del crecimiento de microbios reductores de nitrato en el suelo, alterando el ciclo del nitrógeno (Shan et al. 2018).

Se ha evidenciado que no todo el antibiótico es metabolizado completamente en el organismo en tratamiento, siendo que estos residuos terminan excretados sin variaciones del 17 al 90 % (Massé et al., 2014;Carvalho & Santos, 2016). Finalmente, los antibióticos pueden

derivar de efluentes de la industria farmacéutica, de efluentes industriales y domésticos (Harrabi et al. 2018); es así, que estos compuestos llegan a las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR´S) las cuales son ineficientes para la eliminación de este tipo de contaminantes, resultando en presencia ubicua en el efluente final (Xu et al., 2007; Leung et al., 2012; Kostich et al., 2014). Ofloxacino, Norfloxacino, Roxitromicina, Sulfametoxazol, estaban presentes en afluentes y efluentes en diferentes PTAR's de Guangzhou y Hon Kong en el Sur de China en concentraciones de 0,009 a 2,054 µg L^{-1}(Xu et al. 2007). Hernández et al. (2019) encontró un grupo de quinolonas en muestras de agua de mar, producto del vertimiento de agua residuales que pasaron por tratamiento convencional en las PTAR's de Antártida.

En el Perú, en el Hospital Edgardo Rebagliati Martins, el consumo de cefalosporinas de tercera generación y Quinolonas (Ciprofloxacino) está sobre lo reportado en otros países, (Arnao Tavara and Celis Salinas 2007), en el Hospital I EsSalud La Esperanza – Trujillo el Ciprofloxacino fue el segundo antibiótico más consumido (Valderrama 2018) y en general las Fluoroquinolonas (Ciprofloxacino) está entre los 10 antibióticos de mayor administración parental en ESSALUD (Instituto de Evaluaciones de Tecnologias en Salud e Investigacion, 2019).

Los efluentes tratados son transferidos a cuerpos hídricos (Gao, Munir, and Xagoraraki 2012), pero el vertido de estos residuos municipales, así como su uso en el riego de cultivos es de gran preocupación debido a que promueven la contaminación del suelo (Hu et al., 2010; Han et al., 2015; Reep Pandi Tasho & Cho, 2016). Es por ello, que se evaluó el efecto de Ciprofloxacino sobre la producción de biomasa aérea y radicular, contenido de carbono total en hojas y tallo, número de nódulos de la planta y asimismo el contenido de nitrógeno en suelo.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del Ciprofloxacino presente en el agua de riego sobre la producción de biomasa de alfalfa (Medicago sativa).

1.2.2 Objetivo especifico

- Evaluar el efecto del Ciprofloxacino sobre la cantidad de nódulos producidos.
- Evaluar el efecto del Ciprofloxacino sobre la cantidad de carbono total en la raíz, hojas y tallo.
- Evaluar el efecto del Ciprofloxacino sobre la producción de biomasa seca aérea y radicular.
- Evaluar el efecto del Ciprofloxacino sobre el contenido de nitrógeno total en el suelo.

1.3 Justificación e importancia

Los antibióticos son medicamentos usados para prevenir o tratar enfermedades infecciosas (Payton and Brunetti 2021), suelen tener un bajo costo y fácil disponibilidad, las personas al ingerir antibióticos, metabolizan cierta cantidad y alrededor del 17 al 90 % es excretado en las heces y orina (Carvalho and Santos 2016), estos residuos pasan a pertenecer a las aguas residuales, debido a la poca cantidad de agua que se tiene para satisfacer las necesidades de las personas, se requiere la reutilización del agua, los tratamientos que se usan en las plantas de tratamiento de agua residual no eliminan los antibióticos que se encuentran en ellas, dando como resultado la disposición de agua con contenido de antibiótico para las actividades productivas, recreativas y básicas del ser humano (Kostich et al. 2014).

El agua contaminada con antibióticos en muchos casos es usada para producción agrícola debido al desconocimiento de su presencia en el agua usada, y vienen siendo reportados impactos en los procesos bioquímicos que ocurren en el suelo, en la cantidad y variedad de

microorganismos que la habitan y las funciones que desempeñan en los ciclos (Rahman et al. 2018).

1.4 Hipótesis

La presencia de Ciprofloxacino tiene un efecto significativo negativo sobre el número de nódulos en raíz, la producción de biomasa seca aérea y radicular, contenido de nitrógeno en suelo y carbono total en la alfalfa *(Medicago sativa).*

II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes

Matamoros et al. (2018) en su trabajo de investigación “Distribución de genes de resistencia a los antibióticos en suelos y cultivos, estudio en el campo de las plantas leguminosas (Vicia faba L.) bajo diferentes regímenes de irrigación”, evaluó la calidad del agua usada para riego y los resultados fueron:

- Los resultados mostraron una gradiente de diversidad de especies bacterianas y de prevalencia de genes de resistencia a antibióticos desde muestras de suelo muy diversas hasta frijoles y hojas pobres en microorganismos.
- Los Rhizobios predominaron frente a los demás grupos, y presentaron cargas pequeñas de genes de resistencia a antibióticos y secuencias de integrón.
- Los datos sugieren que el microbioma y la resistencia asociada son probablemente influenciadas por las prácticas agrícolas y la calidad del agua.

Shan et al. (2018) Investigó los efectos de los antibióticos en la transformación de los nitratos y la liberación de NO_2 asociada en los arrozales, los resultados fueron:

- La reducción de la nitrificación, la oxidación anaeróbica de amonio y el proceso de reducción de nitrato, lo que se atribuye principalmente a los efectos inhibitorios de los antibióticos sobre los microorganismos reductores de nitratos.

- Las tasas de liberación de N_2O fueron estimuladas significativamente por los tratamientos antibióticos, los cuales fueron causados por los diferentes efectos de inhibición de los antibióticos sobre la producción de N_2O y la reducción de N_2O.

- Las abundancias de los genes de resistencia a los antibióticos se incrementaron significativamente bajo altas concentraciones de exposición a antibióticos. Estos resultados sugieren que la presencia generalizada de antibióticos en los suelos de arrozales puede suponer una importante amenaza para el medio ambiente.

Gomes et al. (2019), estudió los efectos interactivos del antibiótico Ciprofloxacino y el herbicida Roundup en la germinación de semillas y el desarrollo de las raíces, donde se obtuvieron los siguientes resultados.

- Ambos actúan como inhibidores de la cadena de transporte de electrones mitocondrial en las semillas.

- Ciprofloxacino y Roundup mostraron efectos antagónicos en las semillas de maíz y en la fisiología de las raíces.

Gomes, de Brito, Carvalho Carneiro, et al. (2018), investigaron la capacidad del helecho acuático *Azolla* para captar Ciprofloxacino, así como los efectos de ese antibiótico en el proceso de fijación de Nitrógeno en plantas cultivadas.

- Se observó que la *Azolla* acumula Ciprofloxacino en concentraciones superiores a 160 $\mu g\ g^{-1}$ de peso seco.

- Ciprofloxacino promovió cambios con el metabolismo del carbono y el nitrógeno en las plantas.

2.2 Bases teóricas sobre la investigación

2.2.1 Antibióticos

Son sustancias químicas específicas derivadas o producidas por los organismos vivos que incluso en pequeñas concentraciones son capaces de inhibir los procesos vitales de otros organismos. La palabra antibiótico proviene de las palabras griegas “Avti – Bioc”, y que significan contra la vida. Los primeros antibióticos se aislaron de microorganismos, aunque en la actualidad algunos se obtienen incluso de plantas superiores y de animales. Hasta el momento la bibliografía ha descrito más de 3,100 antibióticos, de los que aproximadamente 2,400 proceden de microorganismos, algunos provienen de modificaciones químicas de otros conocidos o de metabolitos microbianos. Además, algunos antibióticos se preparan en la actualidad totalmente por síntesis, por ejemplo, el clorfenicol (Korolkovas et al.,1983).

La utilización de antibióticos en animales preocupa, como posibles fuentes de resistencia a las bacterias. Estas resistencias podrían extenderse no solo a la flora bacteriana de otros animales, si no afectar también a la población humana. Así mismo los residuos de antibióticos en los alimentos pueden resultar tóxicos para el consumidor, siendo el caso más frecuente el de las reacciones alérgicas (Pascual Anderson and Calderón y Pascual 2000).

2.2.2 Ciprofloxacino

El Ciprofloxacino es un antibiótico que pertenece a la familia de las fluoroquinolonas, el principio activo es ciprofloxacino. Ciprofloxacino actúa eliminando las bacterias que causan infecciones, sólo actúa con cepas específicas de bacterias.

2.2.3 Propiedades farmacológicas

De la cantidad administrada, hasta 80% se absorbe por vía oral, y los alimentos retardan, pero no disminuyen su absorción; las concentraciones pico se observan de 1 a 2 h después de su aplicación. Se distribuye ampliamente en el organismo y sólo una porción se une a las proteínas plasmáticas. Alcanza concentraciones altas en piel, grasa, músculo, hueso y cartílago. Se metaboliza en el hígado, donde se forman varios metabolitos activos. Se elimina por vía renal. Su vida media es de unas 4 h.

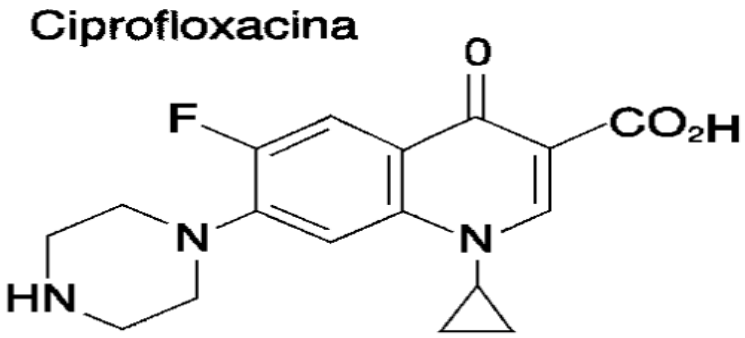
2.2.3.1 Infecciones bacterianas

El Ciprofloxacino se utiliza para tratar las siguientes infecciones bacterianas.

- Infecciones de las vías respiratorias
- Infecciones del oído o sinusales de larga duración o recurrentes
- Infecciones de las vías urinarias
- Infecciones del tracto genital en hombres y mujeres
- Infecciones del tracto gastrointestinal e intrabdominales
- Infecciones de la piel y de tejidos blandos
- Infecciones de los huesos y las articulaciones
- Tratamiento de infecciones en pacientes con un recuento muy bajo de leucocitos (neutropenia)
- Prevención de las infecciones causadas por la bacteria Neisseria meningitis
- Exposición por inhalación al carbunco

Figura 1

Estructura química del Ciprofloxacino



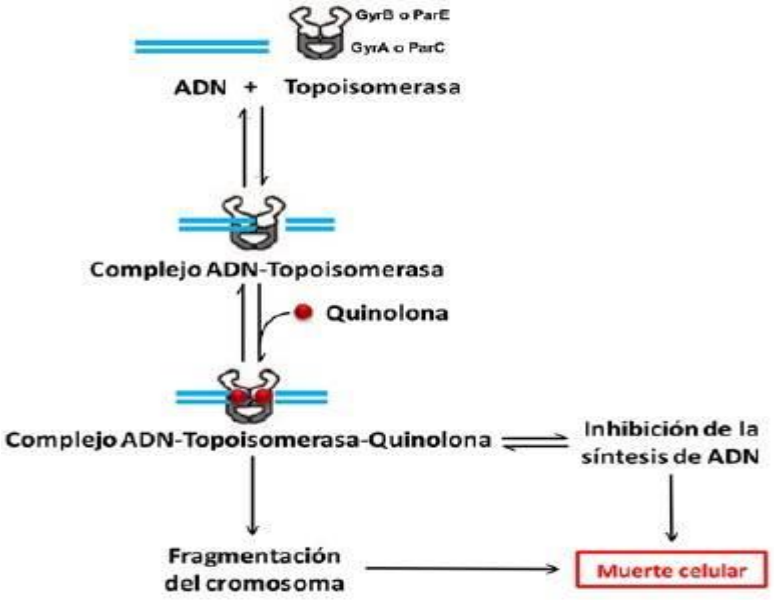
Nota: *53 ANTIMICROBIANOS Quinolonas: Aspectos generales sobre su estructura y clasificación, 2000, Rev.Chill Infect (http://www.unifal-mg.edu.br/fcf/files/Quinolonas2.pdf).*

2.2.3.2 Mecanismo de acción

Para ejercer sus efectos antimicrobianos, las quinolonas son primero transportadas al interior de la célula bacteriana. El mecanismo de acción de estos antibióticos consiste en la inhibición de dos enzimas clave para la replicación, transcripción y reparación del ADN de la célula bacteriana: el ADN topoisomerasa II o ADN girasa y el ADN topoisomerasa IV.

Figura 2

Mecanismo de acción de las quinolonas.



Nota: *Adaptado de, "Resistencia Bacteriana a Quinolonas Determinantes Codificadas en Plásmidos" (p. 6), por Víctor M. Chávez-Jacob, Martha I. Ramírez-Díaz, Jesús Silva-Sánchez y Carlos Cervantes, 2015, Revista de Educación bioquímica 34 (1), Creative Commons.*

2.2.4 El suelo y sus interacciones

El suelo está compuesto por minerales, materia orgánica, diminutos organismos vegetales y animales, aire y agua. Es una capa delgada que se ha formado muy lentamente, a través de los siglos, con la desintegración de las rocas superficiales por la acción del agua, los cambios de temperatura y el viento. Las plantas y animales que crecen y mueren dentro y sobre el suelo son descompuestos por los microorganismos, transformados en materia orgánica y mezclados con el suelo. Los microorganismos o pequeños organismos son de dos tipos: los que despedazan la materia orgánica (insectos y lombrices) y los que la descomponen liberando los nutrientes (hongos, bacterias). Viven dentro del suelo y, además de intervenir para que la materia orgánica sea nuevamente utilizada por las plantas, ayudan a pulverizar las rocas. Lombrices e insectos forman poros que permiten la aireación, el almacenaje del agua y el crecimiento de las raíces (FAO, 1996).

Cada tipo de organismo realiza una función específica. Algunos, como las algas, son fotosintéticas, otros, como las cianobacterias, son capaces de fijar nitrógeno atmosférico. Sin embargo, la mayoría de los organismos del suelo utilizan la materia orgánica o la mineral como fuente de nutrientes y energía. Muchos están especializados en romper la materia orgánica de plantas y animales, dando substancias simples, inorgánicas, que pueden ser devueltas a la atmósfera o arrastradas con las aguas de drenaje o ser incorporadas al stock de reserva mineral o al complejo arcillo-húmico. Otros organismos establecen relaciones simbióticas con otros organismos vivos, como Rizhobium, cianobacterias, micorrizas, etc. Para una buena gestión de los suelos es preciso conocer el hábitat y las costumbres alimentarias de los organismos que lo pueblan para favorecer el

desarrollo de los organismos benéficos y reducir la actividad de los dañinos.(Asociación Vida Sana 2014)

2.2.4.1 Microorganismos importantes en el suelo para la fijación de nitrógeno

Dentro de las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno encontramos dos grupos de organismos. Al primer grupo pertenecen bacterias móviles del suelo, que son atraídas hacia la raíz por compuestos que ésta libera. Pertenecen al grupo de quimioorganotrofos aerobios. Se denominan Rizobios, a este grupo pertenecen *Rhizobium* (nodulan en raíces de leguminosas de climas templados y subtropicales), *Azorhizobium* (nódulos en tallos y raíces) y *Bradyrhizobium* (nodula raíces de soja). Existen otros formadores de nódulos de fijación dudosa de nitrógeno como son: *Phyllobacterium* (forma nódulos en tallos y hojas de mirsináceas y rubiáceas) y *Agrobacterium*. El segundo grupo está formado por Actinomicetos (bacterias Gram positivas) que nodulan raíces de muchos árboles y arbustos. No forma micelio aéreo y sus esporas son inmóviles (García 2011).

2.2.5 Aguas residuales

Son aquellas aguas cuyas características originales han sido modificadas por actividades humanas y que por su calidad requieren un tratamiento previo, antes de ser reusadas, vertidas a un cuerpo natural de agua o descargadas al sistema de alcantarillado (OEFA 2014); así mismo, establece que las aguas residuales se clasifican de la siguiente forma: Aguas residuales domésticas, aguas residuales industriales, aguas residuales municipales

Las aguas residuales producidas en el ámbito municipal requieren el tratamiento apropiado, previo a su reúso o disposición final, con la finalidad de proteger el ambiente y la salud de la población. Los sistemas de tratamiento de aguas residuales son un conjunto

integrado de operaciones y procesos físicos, químicos y biológicos, que se utilizan con la finalidad de depurar las aguas residuales hasta un nivel tal que permita alcanzar la calidad requerida para su disposición final, o su aprovechamiento mediante el reúso (MINAM, 2009).

El tratamiento preliminar o pretratamiento de los vertidos residuales se define como el procedimiento de eliminación de los componentes de las aguas residuales cuya presencia puedan ocasionar problemas de mantenimiento, operaciones y funcionamiento de los diferentes procesos o en los sistemas auxiliares (Metcalf & Eddy, 2014). Por ello, al inicio del tratamiento las aguas se suelen someter a diversos procesos físicos o mecánicos que posibiliten remover las partículas de mayor tamaño (Carrasco & Díaz, 2010). Las operaciones más comunes son: desbaste, desarenado, tamizado, desengrase y predecantación. Los cuales se llevan cabo a través de cribas, desarenadores, flotadores o desengrasadores (Noyola et al., 2013).

El tratamiento primario incluye la posibilidad de eliminar una porción de sólidos y materia orgánica suspendida. Dichos contaminantes pueden reducir la claridad del agua a niveles inaceptables (altos niveles de turbidez), ser agentes infecciosos (bacterias, virus y protozoarios) y tener compuestos tóxicos adsorbidos en sus superficies externas (Howe, 2016). De hecho, esta etapa permite alcanzar remociones alrededor de 60% en sólidos en suspensión y de 30% en DBO_5 (Noyola et al., 2013).

Los procesos presentes en esta etapa pueden ser físicos, como por ejemplo el tamizado y la sedimentación; o químicos, tales como la coagulación y floculación. Dentro de esta gama de procesos, los químicos son los más complejos y funcionan de la siguiente manera, Coagulación y Floculación (Howe, 2016):

Esta etapa del tratamiento está orientada a la eliminación de los sólidos en suspensión y de los compuestos orgánicos biodegradables (principalmente solubles) por medios prioritariamente biológicos debido a su precio asequible y alta eficacia de remoción (Noyola et al., 2013). Por lo general, las aguas residuales constituidas por material biodegradable con una relación DBO/DQO de 0,5 o mayor puede ser tratada por medios biológicos de manera sencilla (Metcalf & Eddy, 2014).

También conocido como “tratamiento avanzado”, se puede definir como el tratamiento necesario, luego del tratamiento secundario, cuyo fin es eliminar los constituyentes de las aguas residuales que ameritan especial atención, como los nutrientes, los sólidos en suspensión, los compuestos tóxicos y la materia orgánica remanente no biodegradable (Metcalf & Eddy, 2014). Generalmente, se recurren a tratamientos terciarios cuando se debe satisfacer condiciones de descarga estricta, que protegen ecosistemas frágiles, o en caso de que el agua tratada este designada para un uso en específico. Para lograr dichos objetivos comúnmente se emplean los procesos unitarios de coagulación química, floculación y sedimentación seguida de filtración y carbono activado.

2.2.6 Cultivo de alfalfa

La alfalfa (*Medicago sativa L*.) es el recurso forrajero más utilizado en la alimentación del ganado en el mundo. Es una de las leguminosas más importantes, debido a su facilidad de adaptación a diversos ambientes y a su calidad nutricional. Otra característica importante, es su gran producción de biomasa, que permite almacenar forraje para aquellas épocas del año en donde las condiciones del clima afectan la oferta forrajera. Otro factor importante que permite la elección de este forraje, es la capacidad que tiene para fijar nitrógeno atmosférico simbióticamente, permitiendo disminuir los costos de producción en

cuanto a las labores de fertilización, además de mejorar las propiedades químicas del suelo (Flórez-Delgado 2015).

2.2.6.1 Cultivo de Alfalfa en la Región Moquegua

Los cultivos en la región Moquegua con mayor cantidad de producción y uso doméstico se muestran a continuación:

Tabla 1
Producción Agrícola de la Región Moquegua 2017

Producto	Sup. Cos Has	Producción T
Alfalfa	9,521	473 404,2
Ajo	24	124,6
Apio	4	54,6
Betarraga	3	47,1
Camote	2	19,4
Cebolla	57	1 517,6
Espinaca	3	38,7
Lechuga	9	125,4
Limón	8	46,6
Olivo	71	168,8
Palta	963	5 061,1
Pepinillo	4	55,5
Quinua	62	59,5
Rabanito	2	28,0
Sandia	20	496,5
Tomate	21	547,1
Vid	419	5 976,8
Zanahoria	13	342,8
Tuna	416	2 292,2
Zapallo	39	597,5

Nota: Anuario Estadístico Agropecuario 2017

2.2.6.2 Morfología de la Alfalfa

La Morfología Botánica es la ciencia que estudia la forma de las plantas, abarcando tanto la morfología general como la experimental. La primera incluye principalmente a la organografía, que es la descripción de la forma de los distintos órganos vegetales.

2.2.6.3 Organografía de la alfalfa

Semilla

El fruto, que recibe en este caso el nombre de legumbre, da origen a las semillas. Las mismas poseen generalmente forma arriñonada y color amarillento, pero también se pueden encontrar semillas angulares y de coloración que varía desde la verde oliva a distintas tonalidades de marrón (Basigalup and Manfredi 2007).

Las semillas, en estado maduro, tienen aproximadamente 1-2 mm de longitud por 1-2 mm de ancho y 1 mm de espesor. Están constituidas por el funículo, el tegumento (testa), el embrión y el albumen. El funículo es el que mantiene unida la semilla al fruto; al secarse, se desprende y forma una cicatriz llamada hilio. El tegumento o testa es la capa externa que rodea al embrión y le brinda protección, siendo además el responsable del color de la semilla.

El embrión originará la futura plántula y en el mismo se pueden observar la radícula, el hipocótilo, la plúmula y los cotiledones. La radícula, que durante la germinación emerge a través del micrópilo, formará la raíz. En sentido contrario, el hipocótilo dará origen a las partes aéreas de la plántula. Por su parte, la plúmula, que es un esbozo formado por hojitas, al desarrollarse originará el tallo. Los cotiledones, gruesos y carnosos, almacenan la mayor parte del tejido de reserva para el desarrollo del embrión. Por último, el albumen es un tejido de reserva que, en el caso de la alfalfa, se encuentra reducido y cuya función principal es facilitar el proceso de germinación (Basigalup and Manfredi 2007).

Germinación y Primeras etapas de desarrollo

En el proceso de germinación, la semilla en contacto con el suelo comienza a embeberse de agua, lo que desencadena una serie de transformaciones que se resume en el desarrollo de una raíz (partiendo de la radícula preexistente en la semilla) y de un talluelo, que se alarga hasta sacar los cotiledones por encima de la superficie del suelo (Figura 3). Estos procesos se realizan a costa de las

reservas existentes en la semilla. Para que las semillas puedan embeberse es necesario que encuentren en el suelo la humedad suficiente. Sin embargo, y atendiendo a que la plántula también precisa condiciones mínimas de aireación para su desarrollo, un exceso de humedad puede paralizar la germinación por reducción del volumen de poros libres en el suelo. Por otro lado, en la alfalfa es común encontrar semillas «duras», que son aquellas incapaces de embeberse de agua aun en condiciones óptimas de humedad (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 3

Germinación de la semilla de alfalfa:



Nota: T. Laura 2020, Germinación de semilla de alfalfa, fuente propia**.**

A medida que el desarrollo de la parte aérea de la plántula continúa (Figura 4), el talluelo se alarga y expone los cotiledones por encima de la superficie del suelo. Posteriormente, la plántula exhibe primero una hoja unifoliada y luego las hojas trifoliadas, también llamadas «verdaderas»(Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 4

Primeras etapas de desarrollo vegetativo: cotiledonal y hoja unifoliada.



Nota: T. Laura 2020, Desarrollo vegetativo de hoja unifoliada, fuente propia**.**

Raíz

En general, el sistema radical de la alfalfa es robusto y profundo, y su función principal es la absorción de agua. Si no existen impedimentos en el perfil de suelo, la raíz puede alcanzar los 2 a 5 metros en sólo 2 a 4 años de vida, de modo que la posibilidad de extraerla de las capas profundas del suelo le ha conferido a la alfalfa su reputación de tolerante a la sequía. La raíz principal de la planta emerge cerca del hilio y de ella puede o no partir un variado número de raíces secundarias o laterales. El sistema radical de la alfalfa puede clasificarse en cuatro tipos generales: raíz pivotante o típica (axonomorfa), ramificada, rizomatosa y rastrera.

Tallo y Corona

El tallo primario es cuadrado en su sección transversal y presenta estomas y pelos. No sólo tiene crecimiento primario, sino que también posee un crecimiento secundario que da origen a un eje leñoso o porción perenne, que forma parte de la corona. En su parte herbácea, presenta nudos desde donde nacen las hojas. El número de los tallos depende de la edad y el vigor de la planta, y puede llegar hasta 20

(Figura 5). El crecimiento de los tallos es inducido por su utilización (pastoreo o corte) o por un nuevo ciclo fisiológico de crecimiento (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 5

Tallos de alfalfa con nudos desde donde salen las hojas trifoliadas.



Nota: T. Laura 2020, Tallos y hojas trifoliadas, fuente propia.

Los tallos son usualmente de consistencia maciza, aunque en algunos casos pueden encontrarse tallos huecos. Existen también diferentes hábitos de crecimiento, fuertemente asociados al grado de reposo invernal. Como regla general, puede afirmarse que las alfalfas sin reposo invernal presentan tallos de porte erecto, en tanto que las alfalfas de reposo intermedio o marcado los poseen de porte semierecto o semirrastrero, respectivamente. A medida que el desarrollo de la planta continúa, el conjunto de la parte basal de tallos nuevos y viejos forma, entre la parte aérea y la raíz, una estructura que recibe el nombre de corona (Figura 6). Más adelante, en la planta

adulta, la corona incluirá la porción perenne de los tallos (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 6

Fases iniciales de la formación de la corona en plantas de 4 meses



Nota: T. Laura 2020, Formación de corona en planta, fuente propia

Hoja

La primera hoja de la plántula de alfalfa es unifoliolada y de forma orbicular. Las segundas y subsecuentes son pinnaticompuestas o imparipinnadas, y se originan en el ápice del tallo. Posteriormente, cuando la planta ya está desarrollada, las hojas pueden originarse del ápice del tallo o de las yemas laterales ubicadas en los nudos de los tallos. Las hojas se unen al tallo por el pecíolo y son usualmente trifolioladas, vale decir que se componen de tres folíolos. Los folíolos son normalmente oblongos u obovados, pero se pueden encontrar formas desde redondeadas a obovado-oblongas e incluso lineales Figura 7 (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 7

Hojas trifolioladas de alfalfa: espatulados y lineales.



Nota: T. Laura 2020, Formas de hojas trifoliadas, fuente propia.

Estadios de madurez de la alfalfa

Existe una gran cantidad de clasificaciones para describir la fenología y la evolución del desarrollo morfológico de las plantas de alfalfa. La utilidad de definir estos estadios de madurez reside en la definición de prácticas de manejo apropiadas para el cultivo. En ese contexto, y utilizando principalmente la altura del canopeo y la sucesión de estadios vegetativos y reproductivos, se han establecido cuatro categorías básicas: estado vegetativo, botón floral, floración y fructificación.

A-estado vegetativo: comprende las fases tempranas de desarrollo, en las cuales no se encuentran todavía estructuras reproductivas.

Estadio 0 (vegetativo temprano): la altura de los tallos es menor a 15 cm y las yemas axilares no son visibles debido a su escaso desarrollo (Figura 8) (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 8

Vista general de un tallo de alfalfa en estadio de madurez



Nota: T. Laura 2020, Tallos de alfalfa estadio de madurez, fuente propia

Estadio 1 (vegetativo medio): la longitud de los tallos es de 16 a 30 cm y, como consecuencia del desarrollo de las yemas axilares, se observan una a dos hojas nuevas desplegadas en las axilas de las hojas viejas. Esta característica es más visible en la porción media de los tallos vista en la Figura 9 (Basigalup and Manfredi 2007).

Figura 9

Vista general de un rebrote de alfalfa en estadio de madurez 1; y detalle de nuevas hojas a partir de las yemas axilares.



Nota: T. Laura 2020, Alfalfa estadio de madurez 1 de 16 a 30 cm, fuente propia.

III. METODO

3.1 Tipo y nivel de investigación

La presente investigación se enmarca dentro de la investigación experimental, así mismo se encuentra dentro de la siguiente clasificación:

a) Según la extensión del estudio es:

- Experimental: En este experimento se manipularán las variables y se tendrá un control.

b) Según el nivel de medición es:

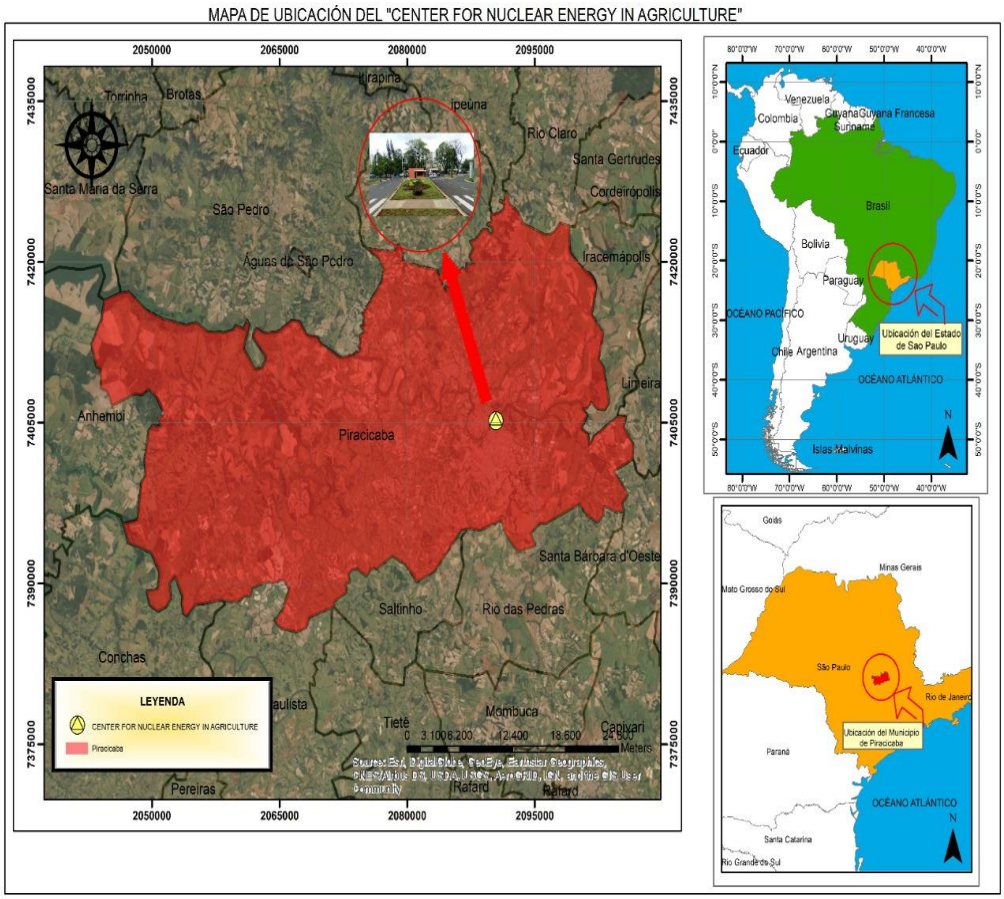
- Cuantitativa

3.2 Ámbito temporal y espacial

Esta investigación se realizó en el Estado de Sao Paulo – Brasil, en el laboratorio de Ecotoxicología del Centro de Energía Nuclear de la Universidad de Sao Paulo. El experimento se realizó en una cámara de crecimiento vegetativo a una temperatura promedio de 24,5 ± 2,5 ° C, humedad relativa entre 63 a 82,8 %, concentración de CO_2 entre 400 a 448 ppm, 12 h de iluminación por día a una intensidad de luz artificial de 469 µmol s^{-1} m^{-2}. Se usaron maceteros de polietileno con dimensiones de 20 X 16 X 15 cm de ancho, alto y base respectivamente con 4 kg de tierra agrícola hasta una altura de 17 cm donde se analizaron el número de nódulos, longitud y peso de raíz y longitud y peso del tallo y hoja, además analizando las concentraciones de nitrógeno y carbono de raíz, hoja, tallos y suelo. La preparación del suelo e instalación del experimento se realizó el mes agosto y la cosecha y el análisis de los datos se realizó en el mes de diciembre.

Figura 10

Localización de Piracicaba en Brasil, en el Estado de Sao Paulo.



Nota: *T. Laura 2021, Mapa de Ubicación de CENA-USP, fuente propia.*

3.3 Procedimiento

3.3.1 Preparación de suelo

El suelo colectado corresponde a la capa superficial de (30 cm de profundidad) de campos de cultivo en Piracicaba, SP, Brasil (22°42’49’’S, 47°37’12”O), combinado con sustrato NPK (Figura 11) (13-36-13) (BASAPLANT - COMPO EXPERT) en relación 1:1 (Mendes et al. 2019).

Figura 11

Preparación de suelo, Tatiana Laura y Franz Zirena realizando la mezcla de suelo y sustrato.



Nota: T. Laura 2020, Preparación de suelo, fuente propia.

3.3.2 Ajuste de pH

El pH en el suelo es importante en la disponibilidad de nutrientes para el desarrollo de las plantas, un pH con valores entre 6 y 7, favorece la presencia de nutrientes (DICTA, 2016). Las bacterias nitrificantes necesitan un pH cercano a 7 para que su crecimiento sea optimo, valores menores inhiben su metabolismo (French et al. 2012), en ese sentido, se realizó la corrección de pH por un periodo de 20 días, debido a que el crecimiento de la alfalfa se veía interrumpido, se utilizó piedra caliza para la corrección de acidez considerando que el valor de saturación de las bases (V%) de la alfalfa debe ser superior al 95 % (Moreira et al. 2007).

Se realizaron los siguientes cálculos:

Densidad del suelo: aprox. 1,25 g/cm3 -> 1250kg/m3 (*clase de textura: medio-arcilloso)

V2 = 95% (para el desarrollo de los cultivos)

V1 = Saturación de las bases del suelo (análisis químico)

Corrección del pH

Método de saturación de la base

NC (t/ha) = [(V2 - V1) * T]/ (10 * PRNT)

NC (t/ha) = [(95 - 72) * 99,6]/ (10 * 70)

NC (t/ha) = 3,27

3.3.3 Instalación de experimento

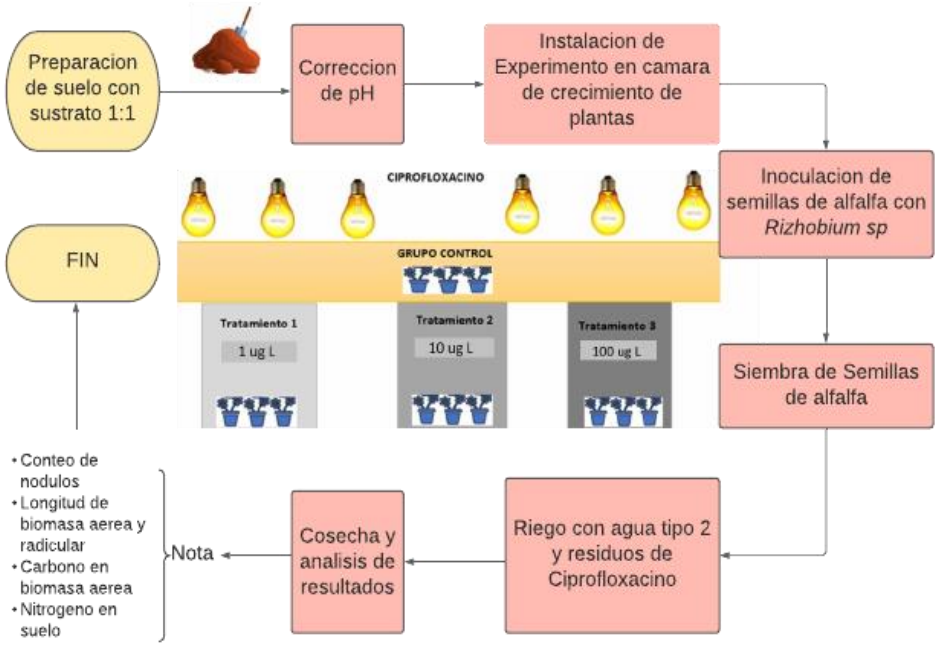
El experimento se realizó en una cámara de crecimiento a una temperatura promedio de 24,5 ± 2,5 ° C, humedad relativa entre 63 a 82,8 %, concentración de CO_2 entre 400 a 448 ppm, 12 h de iluminación por día a una intensidad de luz artificial de 469 µmol s^{-1} m^{-2}. Se usaron maceteros de polietileno con dimensiones de 20 X 16 X 15 cm de ancho, alto y base respectivamente con 4 kg de tierra agrícola hasta una altura de 17 cm (Figura 13). El suelo colectado corresponde a la capa superficial de (30 cm de profundidad) de campos de cultivo en Piracicaba, SP, Brasil (22°42’49’’S, 47°37’12” O), combinado con sustrato NPK (13-36-13) (BASAPLANT - COMPO EXPERT) en relación 1:1 (Mendes et al. 2019). La siembra se realizó con semillas inoculadas (Rizhobium sp) a 1 cm de profundidad en las macetas del vivero del Laboratorio de Ecotoxicología del CENA/USP. Un total de 12 maceteros con cultivo de alfalfa de 3 tratamientos de 1, 10 y 100 µg L^{-1} de CFX con 3 repeticiones y 3 plantas de grupo control fueron monitoreados.

Todas las plantas se regaron con frecuencia de 48 horas con 100 mL de agua destilada tipo 2 durante los primeros 16 días. Seguidamente

se realizaron 6 riegos con frecuencia de 4 días con 200 mL agua tipo 2 diluidas con concentraciones de CPX de 1 µg L^{-1} para tratamiento 1, 10 µg L^{-1} para el tratamiento 2 y 100 µg L^{-1} para el tratamiento 3.

Figura 12

Diagrama de Flujo de la metodología.



Nota: T. Laura 2021, Diagrama de Flujo de experimento, fuente propia.

Figura 13

Instalación de Experimento



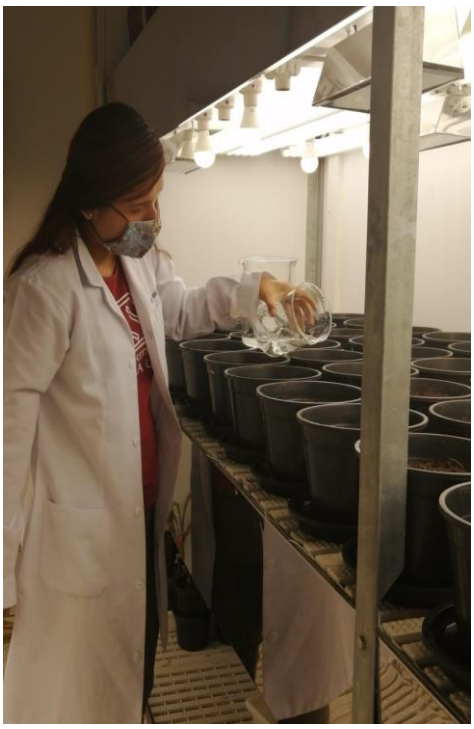
Nota: T. Laura 2021, Instalación de maceteros en cámara de crecimiento, fuente propia

3.3.4 Frecuencia de riego

Después de 48 horas de realizado el raleo, se irrigo 100 mL de agua tipo 2 (Figura 14), la frecuencia de riego fue cada 48 horas con (100 mL) de agua durante 16 días. Durante 24 días se realizaron 6 riegos de agua tipo 2 de (200 mL) con concentraciones de CPX de 1 µg L-1 en para tratamiento 1, (200 mL) con concentración de 10 µg L-1 para el tratamiento 2, (200 mL) con concentración de 100 µg L-1 para el tratamiento 3.

Figura 14

Irrigación de experimento



Nota: T. Laura 2020, Irrigación de plantas con agua tipo 2, fuente propia.

3.3.5 Determinación de nódulos

Después de realizada la siembra de semillas de alfalfa (M. sativa) que previamente fueron inoculadas con Rizhobium sp., al pasar 47 días se realizó la cosecha de las plantas para determinar el número de nódulos presentes en las raíces (Carrasco et al. 2005), en donde se utilizaron bandejas de plástico para la separación de las raíces del suelo, se dejó el suelo sobrante en la bandeja y con el uso de pinzas y tijeras se comenzó a limpiar las raíces, previamente se limpiaron con

agua tipo 2 para retirar residuos de suelo (Pourbabaee et al. 2021) y con la ayuda de una lámpara de luz fría con lente de aumento se comenzó el conteo de nódulos de cada raíz (Figura 15 y 16).

Figura 15

Análisis de nódulos



Nota*:* T. Laura 2020, Raíz vista bajo lente de aumento de luz fría, fuente propia.

Figura 16

Conteo de nódulos con lente de aumento



Nota: T. Laura 2020, Tatiana Laura realizando conteo de nódulos, fuente propia.

3.3.6 Determinación de longitud radicular

Longitud. Se utilizaron bandejas de plástico, donde cuidadosamente se separaron las plantas del suelo, luego se midió con una regla común, desde el inicio de la raíz y termino del tallo hasta la parte final de las raíces de la planta (Figura 17).

Figura 17

Medición de raíz



Nota: T. Laura 2020, Medición de biomasa radicular, fuente propia.

3.3.7 Determinación de masa aérea y radicular

Se dividió la planta, contándose desde el inicio de la raíz de las plantas y termino del tallo (Figura 18), luego se colocó la raíz en bolsa de papel, se llevó a Balanza analítica, colocando placa Petri, tarando y colocando la planta y pesando.

Figura 18

Separación de suelo y planta



Nota: T. Laura 2020, Separación de suelo y planta, fuente propia.

Figura 19

Pesado de raíz



Nota: T. Laura 2020, Pesado de raíz en balanza analítica, fuente propia.

3.3.8 Determinación de carbono y nitrógeno

Las hojas y tallos de las plantas de cada tratamiento fueron colocadas en bolsas de papel, después las muestras de hojas y suelo se secaron a 65 °C, luego se molieron hasta obtener un polvo fino posteriormente

se tomó una submuestra, luego se recogió manualmente para eliminar las raíces finas y otros restos, y se molió hasta obtener un polvo fino. Las submuestras de hojas molidas y se colocaron en cápsulas de estaño y se cargaron en un espectrómetro de masas de relación isotópica ThermoQuest-Finnigan Delta Plus (Finnigan-MAT; CA, EE.UU.) conectado a un analizador elemental (Carla Erba modelo 1110; Milán, Italia) para determinar los contenidos totales de carbono expresado en porcentaje (%) (Oliveira et al. 2021), el principio del método radica en la espectrometría de masas de relaciones isotópicas que realiza un análisis en forma de moléculas gaseosas de CO2, N2, CO, SO2 y H2, ellas son introducidas en un espectrómetro de masas y son arrastrados con un flujo de helio, antes de ello las muestras tienen que ser llevadas a reaccionar a altas temperaturas este proceso es acompañado de catalizadores y tiene como objetivo transformas las muestras a analizar en las especies utilizadas como referencia (Moreno, Peña, and Álvarez 2017).

3.3.9 Análisis de datos

El análisis de varianza (ANOVA) de los datos y los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa informático SPSS 17,0 (Chicago, IL, EE. UU.) para Windows. Los resultados indicados son medias y desviaciones estándar. Para verificar la normalidad e igualdad de varianza del modelo se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. Se utilizó el modelo lineal general (GLM) para determinar los efectos principales e interactivos del cultivo y la concentración d CFX del agua de riego sobre la longitud de la raíz, biomasa de la raíz, numero de nódulos, el contenido de agua. Se realizó un ANOVA de una vía para examinar los efectos del tipo de cultivo sobre la biomasa aérea y sus reservas de nutrientes, así como la biomasa de las raíces, la densidad aparente del suelo, el contenido de agua del suelo, las reservas de nutrientes en la raíz y el suelo para cada profundidad del suelo. La comparación de la media de los datos se realizó mediante las pruebas de rango múltiple de Duncan a un nivel del 5%.

IV. RESULTADOS

Después de haberse realizado el riego con concentraciones de Ciprofloxacino, se hizo la cosecha de alfalfa donde se aplicaron las metodologías anteriormente descritas y se obtuvieron los resultados de la Tabla 2.

Tabla *2*
Resultados de Tratamiento con concentraciones de 1, 10 y 100 µg L-1 de Ciprofloxacino donde hubo diferencias significativas entre tratamientos.

VARIABLES	TESTIGO	TRATAMIENTOS CON CFX (µg L^{-1})			PROMEDIO
		1	10	100	
Carbono tallos y hojas (g kg^{-1})	426,8±5,1	416,3±11,3	404,0±5,0	389,0±6,9	409,0±16,1
Nódulos de raíz (unidad)	520,0±141,5	157,3±23,1	211,3±100,5	29,0±1,4	247,6±201,9
Longitud raíz (cm)	40,5 ± 9,2	39,0 ± 6,2	27,7 ± 2,5	23,8 ± 1,8	32,1 ± 8,5

4.1 Prueba de ANOVA

Los resultados del presente experimento, estadísticamente se sometieron al análisis de varianza, y a la prueba de significación de Duncan. Para obtener altura de la planta, longitud de aérea y radicular, numero de nódulos, contenido de nitrógeno en suelo.

4.1.1 Nódulos en raíz

***Supuesto 1**: La distribución de los residuales debe ser normal.*

Tabla 3
Prueba de Normalidad para número de nódulos

	Tratamientos	Shapiro-Wilk		
		Estadísticos	gl	Sig.
Nódulos en raíz	Teste	,978	3	,719
	TB (1ug L^{-1})	,786	3	,083
	TM (10 ug L^{-1})	1,000	3	,973
	TA (100 ug L^{-1})			

Planteamiento de Hipótesis

H_0: Los datos siguen una distribución normal.

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.719, 0.83, 0.973 son mayores a 0.05, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

Supuesto 2: *Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas.*

Tabla 4
Prueba de homocedasticidad de varianzas para número de nódulos.

(Estadísticos de Levene)	gl1	gl2	Sig.
2,457	3	7	,148

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0.

Conclusión estadística

Dado que los valores 0. 148 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre las varianzas.

ANOVA

En el Tabla 5, se presentan los resultados del análisis de variancia para el numero de nódulos, apreciándose que si existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Tabla 5
ANOVA de 1 factor para el efecto de Ciprofloxacino sobre la biomasa nódulos de raíz.

	Nódulos en raíz				
	Suma de cuadrados	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Inter-grupos	346,567,212	3	115,522,404	13,183	,003
Intra-grupos	61,339,333	7	8,762,762		
Total	407,906,545	10			

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay diferencia entre los Tratamientos.

H_1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente.

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Fisher (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

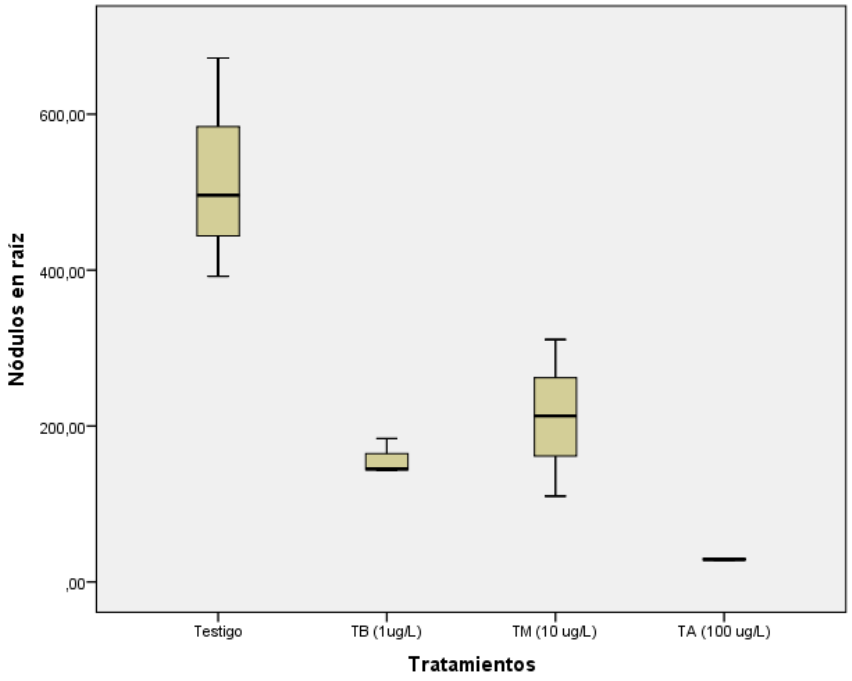
Dado que el 0.003 es menor a 0.050, entonces se rechaza la H_0, por lo tanto, se concluye que al menos 1 de los tratamientos es diferente.

Gráfico de cajas y bigotes

En la Figura 20, se presentan los resultados del análisis de variancia para el numero de nódulos, apreciándose que, aparentemente existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Figura 20

Gráfico de numero de nódulos



Lo que nos demuestra que los promedios obtenidos estadísticamente han logrado marcar diferencia en el número de nódulos. Dado los resultados, se procederá a realizar la prueba post hoc subconjuntos homogéneos de Rango múltiple de Duncan.

Pruebas Post hoc

En la Tabla 6 se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla 6
Subconjuntos homogéneos de nódulos en raíz.

Nódulos en raíz

	Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
Duncan a,b	TA (100 µg/L)	2	29,000	
	TB (1µg/L)	3	157,3	
	TM (10 µg/L)	3	2 11,33	
	Teste	3		520,00

***Nota**: Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos*.

4.1.2 Contenido de carbono en tallos y hojas

Supuesto 01: La distribución de los residuales debe ser normal.

Tabla 7
Prueba de Normalidad en concentración de carbono en tallos y hojas.

	Tratamientos	Shapiro-Wilk		
		Estadísticos	gl	Sig.
Hojas – Tallo Carbono	Test	,889	3	,351
	TB (1ug L^{-1})	,876	3	,314
	TM (10 ug L^{-1})	,963	3	,630
	TA (100 ug L^{-1})	,764	3	,031

Planteamiento de hipótesis

H_0: Los datos siguen una distribución normal

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.351, 0.314, 0.630 son mayores a 0.05, excepto 0.031, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

Supuesto 02: *Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas*.

Tabla 8
Homogeneidad de Varianzas Hojas Tallos carbono

Prueba de homogeneidad de varianzas Hojas - Carbono			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,994	3	8	,194

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0.

Conclusión estadística

Dado que los valores 0. 194 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre las varianzas.

ANOVA

En la Tabla 9, se presentan los resultados del análisis de variancia para el contenido de carbono en hojas y tallo apreciándose que si existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Tabla 9
ANOVA de un factor sobre el contenido de hojas en carbono.

Hojas y tallos - Carbono					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,390,064	3	796,688	14,137	,001
Intra-grupos	450,853	8	56,357		
Total	2,840,917	11			

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay diferencia entre los Tratamientos.

H_1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente.

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Fisher (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

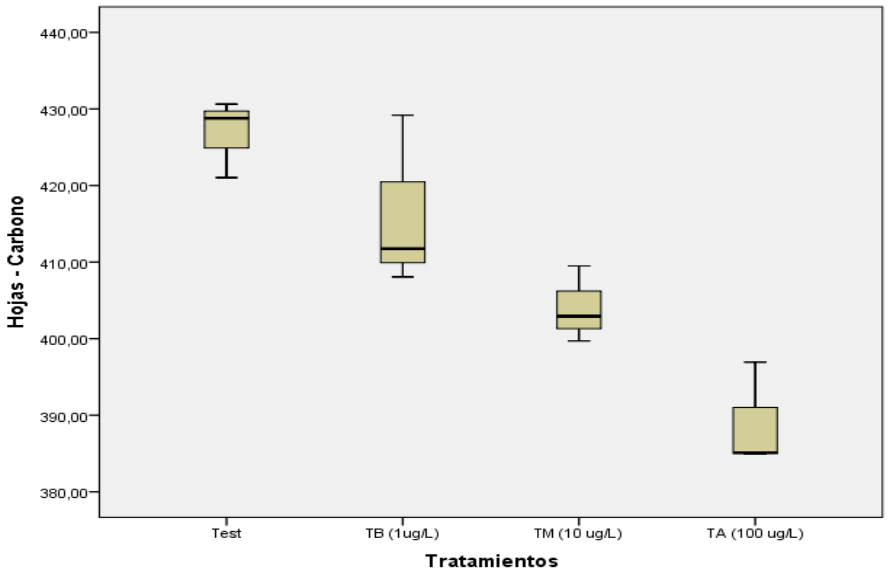
Dado que el 0.003 es menor a 0.050, entonces se rechaza la H_0, por lo tanto, se concluye que al menos 1 de los tratamientos es diferente.

Gráfico de cajas y bigotes

La Figura 21 que nos demuestra que los promedios obtenidos estadísticamente han logrado marcar diferencia en cantidad de carbono en hojas y tallos.

Figura 21

Gráfico de carbono en hojas y tallo



Dado los resultados, se procederá a realizar la prueba pos hoc subconjuntos homogéneos de Rango múltiple de Duncan Tabla 10.

Pruebas post hoc

Tabla 10
Subconjuntos homogéneos prueba de Duncan

Hojas - Carbono					
Tratamiento		N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
Duncan [a]	TA(100 µg/L)	3	3,889,833		
	TM (10 µg/L)	3		4,040,400	
	TB (1ug/L)	3		4,163,400	4,163,400
	Test	3			4,268,200
	Sig.		1,000	,080	,126

***Nota**: Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos donde*

4.1.3 Contenido de carbono en Raíz

***Supuesto 01:** La distribución de los residuales debe ser normal.*

Tabla 11
*Prueba de normalidad para carbono en raíz**.***

Pruebas de normalidad				
	Tratamientos	**Shapiro-Wilk**		
		Estadísticos	**gl**	**Sig.**
Raíz Tallo - Carbono	Test	,962	3	,625
	TB (1ug L^{-1})			
	TM (10 ug L^{-1})	,861	3	,270
	TA (100 ug L^{-1})	,924	3	,468

Planteamiento de hipótesis

H_0: Los datos siguen una distribución normal

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.625, 0.270, 0.468 son mayores a 0.05, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

***Supuesto 02:** Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas*

Tabla 12
Prueba de homocedasticidad de varianzas.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Raíz - Carbono			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,288	3	7	,166

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0.

Conclusión estadística

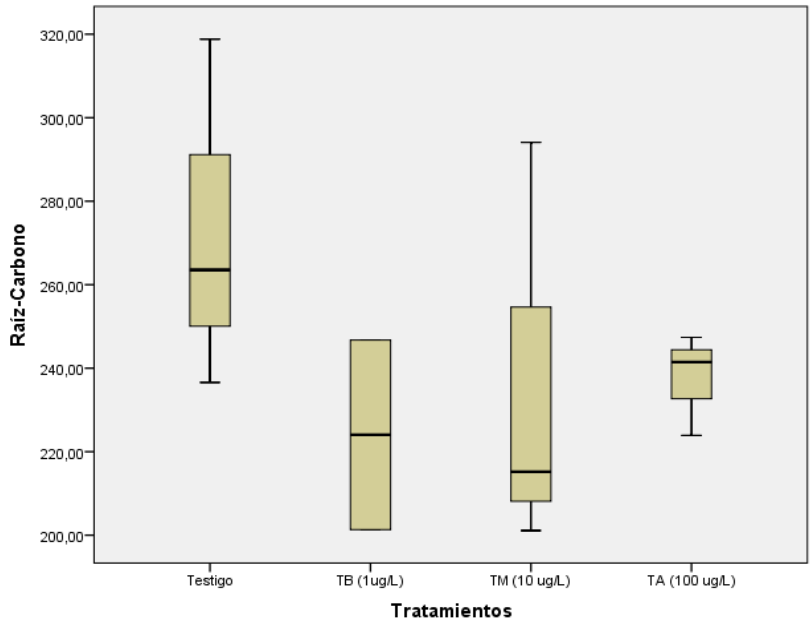
Dado que los valores 0.166 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre las varianzas.

Gráfico de cajas y bigotes

La Figura 22 que nos demuestra que los promedios obtenidos estadísticamente han logrado marcar diferencia en cantidad de carbono en raíz.

Figura 22

Gráfico de carbono en raíz



ANOVA

Tabla 13
ANOVA cantidad de carbono en raíz

	Raíz - Carbono				
	Suma de cuadrados	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Inter-grupos	3590,355	3	1196,785	,849	,510
Intra-grupos	9864,564	7	1409,223		
Total	13454,919		10		

Nota: No hay diferencia significativa

Planteamiento de hipótesis

H o: No hay diferencia entre los Tratamientos

H1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística FISHER (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que el 0.510 es mayor a 0.050, entonces se acepta el Ho, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre los tratamientos.

El factor de carbono en raíz con diferentes concentraciones de Ciprofloxacino añadidas entre los tratamientos y el testigo, no representan diferencia estadística. Dado que no se observa diferencia estadística significativa, no amerita realizar otras pruebas. No hay diferencia entre los tratamientos.

4.1.4 Longitud aérea

***Supuesto 01**: La distribución de los residuales debe ser normal.*

Tabla 14
Prueba de normalidad longitud aérea

Pruebas de normalidad				
	Tratamientos	**Shapiro-Wilk**		
		Estadísticos	**gl**	**Sig.**
Longitud aérea (cm)	Test	,807	3	,132
	TB (1ug L^{-1})	,837	3	,206
	TM (10 ug L^{-1})	,972	3	,679
	TA (100 ug L^{-1})	1,000	3	1,000

Planteamiento de hipótesis

H_0: Los datos siguen una distribución normal

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.132, 0.206, 0.679 son mayores a 0.05, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

Supuesto 02: *Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas*

Tabla 15
Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Altura aérea (cm)			
Estadísticos de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,487	3	8	,290

Planteamiento de Hipótesis

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0.

Conclusión estadística

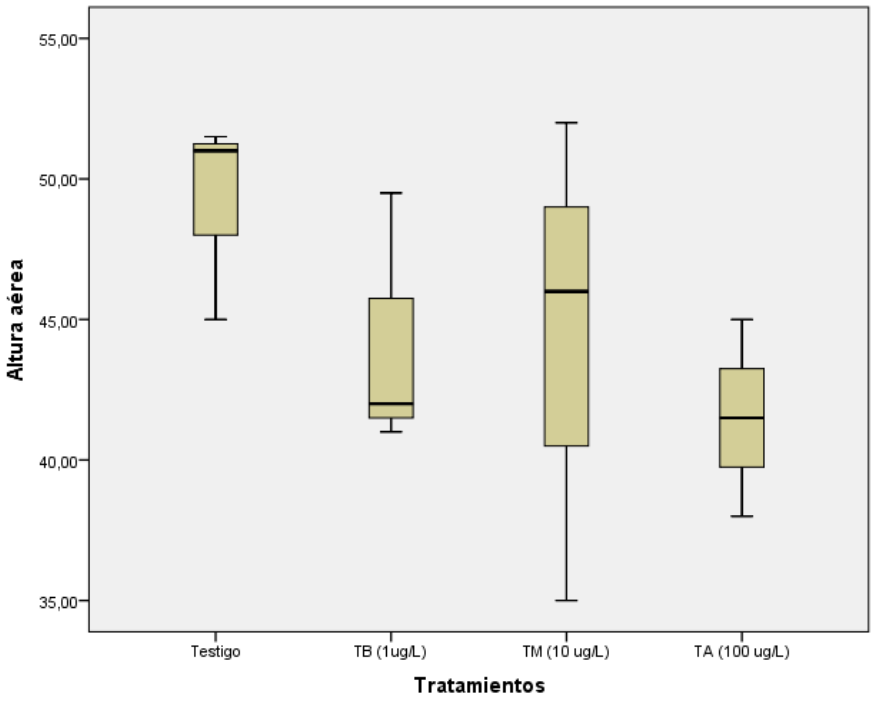
Dado que los valores 0.290 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre las varianzas.

Gráfico de cajas y bigotes

La Figura 23 que nos demuestra que los promedios obtenidos estadísticamente no han logrado marcar diferencia en la longitud aérea.

Figura 23

Gráfico de longitud aérea



ANOVA

Tabla 16

ANOVA para el efecto de Ciprofloxacino sobre longitud aérea

	Longitud Aérea (cm)				
	Suma de cuadrados	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Inter-grupos	91,729	3	30,576	1,009	,438
Intra-grupos	242,500	8	30,313		
Total	334,229	11			

Planteamiento de hipótesis

H o: No hay diferencia entre los Tratamientos

H1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística FISHER (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que el 0.438 es mayor a 0.050, entonces se acepta el Ho, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre los tratamientos. El factor de longitud aérea con diferentes concentraciones de Ciprofloxacino añadidas entre los tratamientos y el testigo, no representan diferencia estadística. Dado que no se observa diferencia estadística significativa, no amerita realizar otras pruebas.

4.1.5 Longitud radicular

Supuesto 01: La distribución de los residuales debe ser normal.

Tabla 17
Prueba de normalidad Longitud radicular

Pruebas de normalidad				
	Tratamientos	**Shapiro-Wilk**		
		Estadísticos	**gl**	**Sig.**
Longitud de Raíz	Teste			
	TB (1ug/L)	,923	3	,463
	TM (10 ug/L)	,987	3	,780
	TA (100 ug/L)	,993	3	,843

Planteamiento de hipótesis

H_0: Los datos siguen una distribución normal

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.463, 0.780, 0.843 son mayores a 0.05, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

Supuesto 02: *Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas.*

Tabla 18
Homogeneidad de varianzas

(Estadísticos de Levene)	gl1	gl2	Sig.
6,117	3	7	,023

Planteamiento de hipótesis

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0

Conclusión estadística

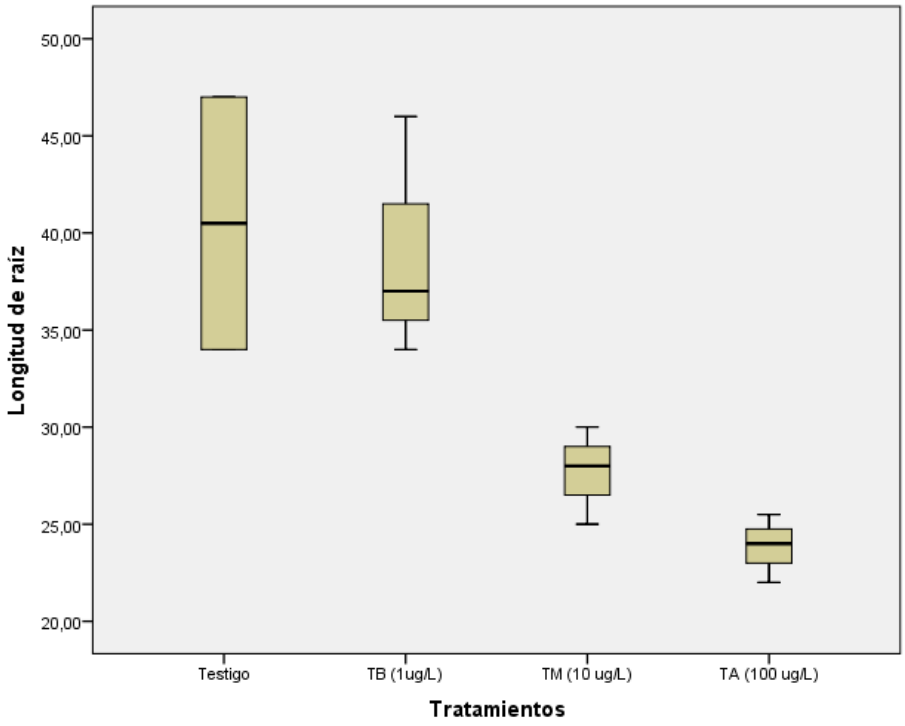
Dado que los valores 0. 023 es menor a 0.050, entonces se rechaza la H_0, por lo tanto, se concluye si hay diferencia entre las varianzas.

Gráficos de cajas y bigotes

En la Figura 24, se presentan los resultados del análisis de variancia para longitud radicular, apreciándose que si existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Figura 24

Gráfico de longitud radicular



ANOVA

En el Tabla 18, se presentan los resultados del análisis de variancia para longitud radicular, apreciándose que si existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Tabla 19
ANOVA para el efecto de Ciprofloxacino sobre la Longitud radicular.

Longitud de raíz					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	547,894	3	182,631	7,050	,016
Intra-grupos	181,333	7	25,905		
Total	729,227	10			

Planteamiento de hipótesis

H_0: No hay diferencia entre los Tratamientos

H_1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Fisher (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que el 0.016 es menor a 0.050, entonces se rechaza la H_0, por lo tanto, se concluye que al menos 1 de los tratamientos es diferente.

Pruebas post hoc

Dado los resultados, se procederá a realizar la prueba pos hoc subconjuntos homogéneos de Rango múltiple de Duncan (Tabla 20) en donde se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Tabla 20
Pruebas post hoc Subconjuntos homogéneos

	Longitud de radicular			
	Tratamientos	**N**	**Subconjunto para alfa = 0.05**	
			1	**2**
Duncan [a,b]	TA (100 µg/L)	3	238,333	
	TM (10 µg/L)	3	276,667	
	TB (1µg/L)	3		390,000
	Teste	2		405,000
	Sig.		,413	,744

4.1.6 Nitrógeno en suelo

El factor de nitrógeno en suelo, no representan diferencia estadística. Dado que no se observa diferencia estadística significativa, no amerita realizar otras pruebas. No hay diferencia entre los tratamientos.

Supuesto 01: La distribución de los residuales debe ser normal

Tabla 21
Pruebas de normalidad para nitrógeno en suelo

Planteamiento de hipótesis

Pruebas de normalidad				
	Tratamientos	**Shapiro-Wilk**		
		Estadísticos	**gl**	**Sig.**
Suelo - Nitrógeno	Test	,915	3	,433
	TB (1ug L^{-1})	,781	3	,070
	TM (10 ug L^{-1})	,964	3	,637
	TA (100 ug L^{-1})	,881	3	,328

H_0: Los datos siguen una distribución normal

H_1: Los datos siguen una distribución diferente a la normal

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Shapiro-Wilk

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que los valores 0.433, 0.070, 0.637, 0.328 son mayores a 0.05, entonces no se rechaza H_0, por lo tanto, se concluye que los datos si siguen una distribución normal.

Supuesto 2: *Homocedasticidad que consiste en la homogeneidad de las varianzas.*

Tabla 22
Prueba de homogeneidad de varianzas nitrógeno en suelo

Planteamiento de hipótesis

Prueba de homogeneidad de varianzas Suelo - Nitrógeno			
Estadísticos de Levene	gl1	gl2	Sig.
,462	3	8	,717

H_0: No hay una diferencia entre las varianzas.

H_1: Si hay diferencia entre las varianzas.

Nivel de significancia: 0.05

Prueba estadística De Levene

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar H_0

Conclusión estadística

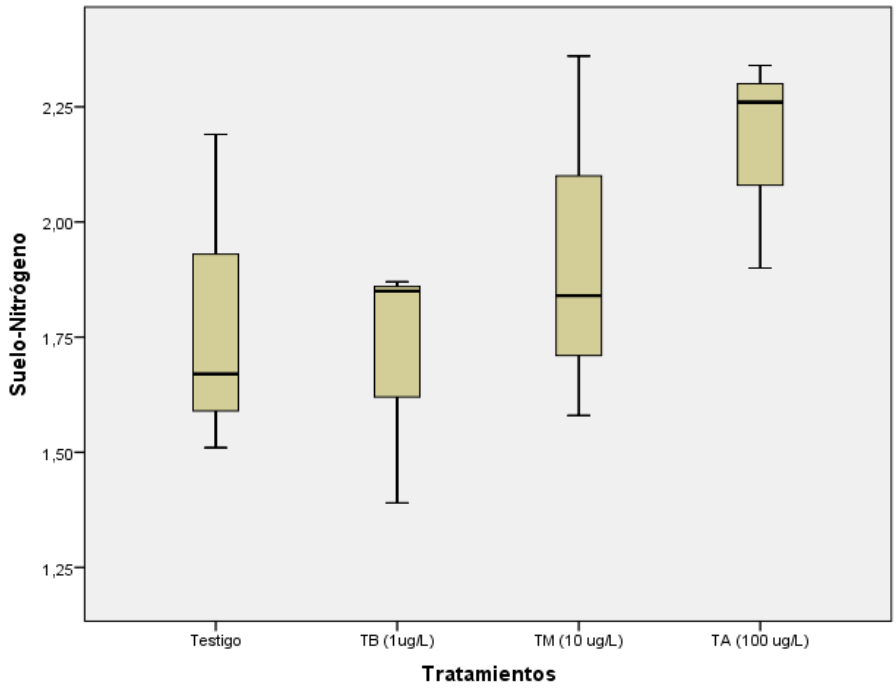
Dado que los valores 0. 717 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia en las varianzas.

Gráfico de cajas y bigotes

En la Figura 25, se presentan los resultados del análisis de variancia para concentración de nitrógeno en suelo, apreciándose que no existe diferencia estadística significativa entre bloques.

Figura 25

Gráfico de concentración de nitrógeno en suelo



ANOVA

Tabla 23

Tabla ANOVA de un factor de cantidad de nitrógeno en suelo.

	Suelo - Nitrógeno				
	Suma de cuadrados	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Inter-grupos	,368	3	,123	1,188	,374
Intra-grupos	,826	8	,103		
Total	1,193	11			

Planteamiento de hipótesis

H_0: No hay diferencia entre los Tratamientos

H_1: Al menos 1 de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia 0.05

Prueba estadística Fisher (F)

Criterio de decisión

Si P-valor es menor al alfa, entonces rechazar Ho

Conclusión estadística

Dado que el 0.374 es mayor a 0.050, entonces se acepta la H_0, por lo tanto, se concluye que no hay diferencia entre los tratamientos. El factor de nitrógeno en suelo con diferentes concentraciones de Ciprofloxacino añadidas entre los tratamientos y el testigo, no representan diferencia estadística. Dado que no se observa diferencia estadística significativa, no amerita realizar otras pruebas.

V. DISCUSIÓN

5.1 Contenido de carbono en tallos y hojas

El contenido de carbono en los tejidos de las plantas está estrechamente relacionado a la captura de CO_2 atmosférico, la que se realiza a través de la fotosíntesis (Eloka-Eboka, Bwapwa, and Maroa 2020), este CO_2 ingresa a través de los estomas, como parte del insumo del proceso de la fotosíntesis, estos estomas se cierran de noche para reducir la transpiración del agua (Melotto, Underwood, and He 2008). La tabla 2, muestra que el contenido de carbono en las hojas y tallos de alfalfa en el testigo fue de 426,8 g kg^{-1}; sin embargo, este contenido se reduce a medida que las concentraciones de CFX en el agua de riego fueron incrementadas. Este efecto tiene relación con la capacidad de almacenamiento del CFX en los tejidos aéreos realizado por la planta (Ahmed et al. 2015; Jayampathi, Atugoda, and Jayasinghe 2019; Yan et al. 2020), cuyos impactos tienen relevancia en el proceso de la fotosíntesis y la respuesta al estrés oxidativo de las plantas (Xie, Zhou, Lin, Guo, & Bao, 2011; Wen et al., 2012; Opriş et al., 2013). La presencia de CFX tiene un mecanismo de interferencia en la fotosíntesis, según Aristilde, Melis, & Sposito, (2010), quienes revelan que el anillo de la quinolona y el grupo amino secundario típicamente presentes en las fluoroquinolonas pueden mediar su acción como inhibidores del sitio de quinona en el fotosistema II (PS-II), una enzima clave en el transporte de electrones fotosintéticos. Por otro lado, Gomes et al. (2017) , propusieron que el CFX conduce a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que, a su vez, promueven el estrés oxidativo, como daño a las membranas tilacoides y supresión de la síntesis de nuevas proteínas asociadas con PS-II, lo que resulta en una disminución de la actividad fotosintética (Gomes, de Brito, Bicalho, et al. 2018); por ende una evidente reducción del contenido de carbono en las hojas y tallos a medida que las concentraciones de CFX fueron incrementadas en el agua de riego.

Cuando las concentraciones de CFX fueron de 100 µg L^{-1}, se observó que la concentración de carbono en base seca en tallos y hojas alcanzó 389,0 ± 6,9 g kg^{-1}, este valor muestra una disminución de 8,9 % frente al grupo control. Lo que sugiere que, a mayor concentración de antibiótico en el agua de riego, el contenido de carbono en la biomasa aérea tiende a reducir. Estos hechos pueden estar relacionados a la afectación del número y la morfología de los cloroplastos, lo que implica que la división del cloroplasto puede verse afectada en presencia de antibióticos (Evans-Roberts et al. 2016). También las mitocondrias son afectadas en presencia de antibióticos generando graves consecuencias para las plantas, ya que estos orgánulos están estrechamente asociados con la producción de ATP, el poder reductor (NADH) y la producción de esqueletos de carbono para actividades celulares, bajo esas condiciones los sistemas antioxidantes no controlan los niveles de ROS, esas moléculas pueden acumularse y generar daño oxidativo a los sistemas de membranas de las mitocondrias y otras estructuras celulares como los tilacoides y las membranas celulares (Rocha et al. 2021), cuando la exposición de CFX en concentración de 1 µg L^{-1} la cantidad de carbono fijado disminuye en 2,5 %. Lo que nos permite deducir que el CFX tiene efectos perjudiciales en la fijación de carbono para este cultivo. Se sabe que las leguminosas son una fuente importante de fijación de carbono, el cual representa un enfoque sostenible para transformar el CO_2 en materia orgánica, y los efectos tóxicos de CFX representan una amenaza debido a que su presencia en el agua de riego en concentraciones de 1, 10 y 100 µg L^{-1}, disminuye la fijación de carbono en tallos y hojas en 2,5, 5,3 y 8,9 % respectivamente en comparación con el grupo control.

5.2 Longitud de raíz

El efecto de la presencia de CFX en las concentraciones de 1, 10, 100 µg L^{-1} respectivamente en el agua de riego sobre el crecimiento de la raíz en alfalfa después de 40 días. El CFX alteró la longitud de la raíz,

cuando la exposición fue a 1 µg L^{-1} la raíz tubo 39,0 ± 6,2 cm, mientras que para 10 y 100 µg L^{-1} fue de 27,7 ± 2,5 y 23,8 ± 1,8 cm respectivamente, siendo estas dos últimas diferentes frente al grupo control y cuando son expuestos a 1 µg L^{-1} ($p<0,01$).

Las concentraciones de 10 y 100 µg L^{-1} de CFX indujeron efectos en la reducción significativa de la longitud de la raíz. Las evaluaciones realizadas con diferentes tratamientos de las plantas revelan que las concentraciones de CFX disminuyen la longitud de la raíz. La concentración de CFX de 1 µg L^{-1} no altera de manera significativa la longitud de la raíz, mientras que las concentraciones superiores a 10 µg L^{-1} y 100 µg L^{-1} se obtuvo 27,7 ± 2,5 cm y 23,8 ± 1,8 cm respectivamente, evidenciando diferencia significativa en el crecimiento frente al grupo control (40,5 ± 9,2 cm). La longitud de raíz tiene relación inversa a la concentración de CFX, comparado con el grupo testigo en la alfalfa, el residuo de CFX inhibe el crecimiento de la raíz ya qué los residuos de antibióticos tienden a alojarse principalmente en las raíces de las plantas más que en los tejidos aéreos (L. Liu et al., 2013; J. Chen et al., 2020).

Las plantas son capaces de absorber antibióticos en la solución del suelo a través de sus raíces y acumularlos en sus tejidos (raíz, fruto, hojas) (Ahmed et al. 2015; Jayampathi et al. 2019). Además, la sorción y fijación, movilidad y transporte en el suelo han sido bien documentados (Tolls, 2001; Gomes et al., 2020; Marques et al., 2021). Las raíces son típicamente más afectadas por la acumulación de antibióticos (Migliore et al. 2010) lo que impactan negativamente en la longitud, elongación y el número de raíces secundarias (Piotrowicz-Cieślak, Adomas, Nałęcz-Jawecki, & Michalczyk, 2010; Michelini, Reichel, Werner, Ghisi, & Thiele-Bruhn, 2012). Nuestros datos muestran la reducción de crecimiento de la raíz, cuando fueron expuestas a concentraciones mayores a 10 µg L^{-1}, debido posiblemente a la fitotoxicidad de las altas concentraciones de CFX en las raíces, que son los tejidos más importantes para la absorción y

acumulación (Ali Mirza et al. 2020; Yan et al. 2020), esta reducción en la longitud podría estar relacionado a la inhibición de la ADN girasa, que cataliza el superenrollamiento del ADN dependiente del ATP (Ebert et al. 2011; Liu et al. 2013). En consecuencia los antibióticos alteran la elongación de la raíz y la división celular en el meristemo apical del mismo (Bellino et al. 2018). Nuestros resultados concuerda con la mayoría de los estudios con respecto a los efectos de morfología de la raíz de la planta (elongación de la raíz y el número de raíces secundarias) (F. Liu et al., 2009; L. Liu et al., 2013; Bellino et al., 2018), además esta se agudiza significativamente cuando las concentraciones de CFX se incrementan; lo que sugiere que a mayor concentración de dosis expuestas a las plantas, es probable que las cantidades de absorción de antibióticos sean más altas (Azanu et al. 2016).

Esta disminución en la reducción de la elongación de la raíz, puede tener consecuencias para la absorción de agua (Piotrowicz-Cieślak et al., 2010; Michelini et al., 2012), nutrientes e interacciones bioquímicas y enzimáticas suelo-planta (Tasho, Shin, and Cho 2018). Entonces el crecimiento de las raíces es uno de los factores más importantes que afectan el crecimiento de las plantas y la capacidad de resistir el estrés ambiental (Hachana et al. 2021). El CFX puede afectar la producción de la alfalfa por ser un cultivo de vegetación larga, ocasionando la alteración de la producción de biomasa, número de hojas, patrones de ramificación, peso fresco / seco, entre otros (Michelini et al. 2012; Tasho et al. 2018). Por lo tanto, existe un riesgo potencial de que las plantas puedan transferir antibióticos del suelo a la cadena alimentaria, entonces, la actividad agrícola se convierte sensible a estos cambios cuando las aguas residuales son reutilizados directa o indirectamente para riego cuya actividad se vuelve cada vez más frecuente debido a la escasez real en muchas regiones productoras de alimentos (Piña et al. 2020).

5.3 Numero de nódulos en raíz

El efecto de 1, 10, 100 µg L^{-1} de CPX sobre la cantidad de nódulos de las raíces de la alfalfa muestra diferencias significativas; la cantidad de nódulos fue de 157,3±23,1 unidades cuando fue expuesta a 1 µg L^{-1}, cuya diferencia es menor en 70 % al grupo control, seguido de 211,3±100,5 y 29,0±1,4 unidades cuando la concentración de CFX fueron 10 y 100 µg L^{-1} respectivamente, lo que demuestra diferencia de 59 y 95 % menor al grupo control ($p<0,01$).

La característica diferencial de las leguminosas es el predominio de la simbiosis leguminosa-Rizobios cuyas ventajas dan incremento de la productividad de los cultivos y el mantenimiento y la restauración de la fertilidad del suelo (Verma et al. 2020). La principal característica para que esta simbiosis ocurra es el ingreso de bacterias a los nódulos, así como lo demuestra Pourbabaee, Khazaei, Alikhani, & Emami. (2021), quienes aislaron 25 cepas bacterianas de nódulos de alfalfa con diferentes características morfológicas. Cuando las plantas fueron expuestas a 1 µg L^{-1} de CFX se observa una reducción significativa en la cantidad de nódulos 157,3±23,1 unidades y cuando se incrementa la concentración a 100 µg L^{-1} la cantidad de nódulos sigue disminuyendo, alcanzando 29,0±1,4, lo que representa una reducción de 70 y 95% respectivamente al grupo control, entonces la presencia de CFX tiene la capacidad de modificar los componentes fisicoquímicos (Trivedi and Vasudevan 2007) y biológicos del suelo (Yang et al. 2019).

La presencia de CFX en el suelo es probable que se tenga efectos directos en la conformación y desarrollo de los nódulos radiculares, por la capacidad bactericida de este compuesto que disminuye la población bacteriana benéfica del suelo (Chen et al. 2018), lo que reduce la capacidad de formación de nódulos el cual inicia con la penetración de la bacteria *Rizhobium* en las raíces de las leguminosas a través del proceso de fijación simbiótica (Dickison 2000; Verma et

al. 2020). En el estudio el CFX presenta la máxima toxicidad para las muestras expuestas a 100 µg L^{-1} con la disminución en cantidad y características morfológicas macroscópicas que corresponden al tamaño y forma de los nódulos, incluso esta disminución se dio en la concentración más baja de 1 µg L^{-1}. Las concentraciones bajas de antibiótico frente a altas, presenta diferentes consecuencias para la fisiología bacteriana, conduciendo ambas a la muerte de las células bacterianas, pero en una escala de tiempo diferente y de una manera diferente, tal es así que los efectos de la intermitencia y los tiempos de exposición permiten que las células bacterianas puedan recuperar su crecimiento cuando se deje de exponer antibióticos al suelo (Mayer, Sass, and Brötz-Oesterhelt 2019). Sin embargo, el CFX es el antibiótico de fluoroquinolonas con mayor frecuencia de detección en las aguas residuales con concentraciones que alcanzan 11 – 99 µg L^{-1} (Parsa, Panah, and Chianeh 2016).

Los efectos del CFX sobre los nódulos tiene implicancias directas en la disminución de interacción asociada a las leguminosas que permite fijar el nitrógeno a través del proceso denominado fijación simbiótica de nitrógeno (Verma et al. 2020). El efecto del CFX afecta directamente el crecimiento de las plantas o reduce la capacidad de simbiosis de las plantas hospedantes al afectar la supervivencia y el crecimiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno (Pourbabaee et al. 2021), efecto que se vio evidenciado en nuestro experimento, debido a la disminución en la capacidad de división celular de la raíz de la planta para formar nódulos, lo que reduce la fijación de nitrógeno. La disminución de microrganismos benéficos por la exposición de CFX puede reducir la protección contra plagas y otros microrganismos patógenos y disminuye la capacidad de tolerar al estrés abiótico y biótico, en consecuencia la composición microbiana de la rizosfera de las plantas es clave para controlar las enfermedades transmitidas por el suelo (Joshi et al. 2021). La nodulación de raíces en presencia de antibióticos mayores a 1 µg L^{-1} es menor y tiene una diferencia significativa.

Dentro de la biosfera ocurren los ciclos biogeoquímicos, que se caracterizan por ser ciclos dinámicos y cuyo mecanismo de transformación depende de la disponibilidad de nutrientes como el fosforo y nitrógeno, entre otros, que son parte necesaria para la formación de la vida (Emilia et al. 2012), en ese sentido cae en gran importancia asociaciones simbióticas entre plantas leguminosas y microorganismos fijadores que puede fijar nitrógeno atmosférico (N_2) y mantener la fertilidad del suelo (Saad, Sulieman; Lam-Son 2017) ya que la fijación biológica del nitrógeno aporta 180 millones de toneladas métricas de amonio al año, y el 80 % llega de asociaciones simbióticas entre microorganismos y plantas (Tilak et al., 2005). Se ha documentado que la presencia de agentes contaminantes en el suelo, afecta las relaciones simbióticas entre bacterias fijadoras y leguminosas (Pourbabaee et al. 2021) ya que disminuyen los nódulos que crecen en raíces de las plantas , disminuyendo así la fijación de Nitrógeno (Anderson et al. 2004). El nitrógeno es indispensable para la fertilización del suelo y para el rendimiento vegetal (Emilia et al. 2012), esta asociación de microorganismos, suelo y planta, son de suma importancia ya que además ser un sistema de fertilización natural, los seres humanos viven en la tierra y utilizan el suelo para obtener alimentos y dar vigencia a la vida (Burbano 2016), siendo un ecosistema complejo, dotan a los seres humanos el 98,8 % de alimentos y es la demanda de alimento más grande a medida que crece la población (Kopittke et al. 2019).

5.4 Biomasa aérea y Nitrógeno

Las concentraciones de nitrógeno en el suelo y biomasa aérea no tuvieron efectos significativos por la adición de las diferentes concentraciones de ciprofloxacino (Grenni et al. 2018); se sabe que la presencia de los antibióticos en el suelo provoca disminución de microorganismos que aporta en la calidad del suelo (Ding et al. 2014), siguiendo la disminución de la diversidad de microorganismos nitrificantes (Ollivier et al. 2013) y reductores de nitrógeno (Hou et al.

2015), en consecuencia las tasas de nitrificación, oxidación de amonio y la reducción de nitrato a amonio disminuyen por la inhibición del crecimiento de microbios reductores de nitrato en el suelo, alterando el ciclo del nitrógeno (Shan et al. 2018); no obstante, la planta puede absorber nutrientes en el suelo mediante sus raíces (J. Zhang et al., 2021) y así poder continuar con el desarrollo de la biomasa de la planta (Fan et al., 2016), asimismo, las bacterias pueden aprovechar los nutrientes para sus procesos, en condiciones no tan favorables para la planta (Xia Wang et al., 2021), ademar de darse el proceso de homeostasis en las plantas; es así, Mayer et al., 2019, afirma que los efectos de la intermitencia y los tiempos de exposición de los antibióticos permiten que los microorganismos que participan en la fijación de nutrientes puedan recuperar su crecimiento cuando se deje de exponer antibióticos al suelo (Mayer et al. 2019).

VI. CONCLUSIONES

- La presencia de Ciprofloxacino con concentraciones de 1, 10, y 100 µg L^{-1}, disminuye la fijación de carbono en los tallos y hojas del cultivo de alfalfa en 2.5%, 5.3 % y 8.9 % respectivamente.

- La presencia de Ciprofloxacino con concentraciones de 1, 10, y 100 µg L^{-1}, disminuye el número de nódulos en raíz del cultivo de alfalfa en 70 %, 59 % y 95 % respectivamente.

- La presencia de Ciprofloxacino con concentraciones de 10, y 100 µg L^{-1}, disminuye la longitud radicular del cultivo de alfalfa en 31.60 % y 41.23 % respectivamente, la concentración de 1µg L^{-1} no tuvo efectos significativos en la disminución de longitud radicular del cultivo de alfalfa.

- La presencia de Ciprofloxacino, no tuvo efectos significativos en la disminución de la concentración de nitrógeno en suelo.

- La presencia de Ciprofloxacino, no tuvo efectos significativos en la disminución de la producción de biomasa aérea.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

(FAO), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1996. ECOLOGIA Y ENSEÑANZA RURAL. Nociones Ambientales Básicas Para Profesores Rurales y Extensionistas.

Ahmed, Mohammad Boshir, John L. Zhou, Huu Hao Ngo, and Wenshan Guo. 2015. “Adsorptive Removal of Antibiotics from Water and Wastewater: Progress and Challenges.” Science of The Total Environment 532:112–26.

Ali Mirza, Safdar, Muhammad Afzaal, Sajida Begum, Taha Arooj, Muniza Almas, Sarfraz Ahmed, and Muhammad Younus. 2020. “Chapter 11 - Uptake Mechanism of Antibiotics in Plants.” Pp. 183–88 in Advances in Environmental Pollution Research series. Vol. 1, edited by M. Z. B. T.-A. and A. R. G. in the E. Hashmi. Elsevier.

Anderson, A., J. A. Baldock, S. L. Rogers, W. Bellotti, and G. Gill. 2004. “Influence of Chlorsulfuron on Rhizobial Growth, Nodule Formation, and Nitrogen Fixation with Chickpea.” Australian Journal of Agricultural Research 55(10):1059–70.

Aristilde, Ludmilla, Anastasios Melis, and Garrison Sposito. 2010. “Inhibition of Photosynthesis by a Fluoroquinolone Antibiotic.” Environmental Science & Technology 44(4):1444–50.

Arnao Tavara, Luis, and Juan Celis Salinas. 2007. “Consumo , Indicación y Prescripción de Antibióticos de Reserva En Los Servicios de Medicina Interna , Cirugía General y Cuidados Intensivos de Adultos Del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins – EsSalud (Tesis Para Optar a Especialidad).” 1–76.

Asociación Vida Sana. 2014. “Microorganismos Del Suelo y Biofertilización.” Crops for Better Soil 1/43.

Azanu, David, Christiana Mortey, Godfred Darko, Johan Juhl Weisser, Bjarne Styrishave, and Robert Clement Abaidoo. 2016. “Uptake of Antibiotics from Irrigation Water by Plants.” Chemosphere 157:107–14.

Basigalup, Daniel H., and E. E. A. Manfredi. 2007. “El Cultivo de La Alfalfa En La Argentina.” 479.

Bellino, Alessandro, Giusy Lofrano, Maurizio Carotenuto, Giovanni Libralato, and Daniela Baldantoni. 2018. “Antibiotic Effects on Seed Germination and Root Development of Tomato (Solanum Lycopersicum L.).” Ecotoxicology and Environmental Safety 148:135–41.

Burbano, Hernan. 2016. “El Suelo y Su Relación Con Los Servicios Ecosistémicos y La Seguridad Alimentaria.” Revista De Ciencias Agrícolas 33(2):117–24.

Carrasco, Antonio, Patricia Armario, Manuel A. Chamber, Antonio J. Palomares, A. Caviedes, and Rafael Lo. 2005. “Isolation and Characterisation of Symbiotically Effective Rhizobium Resistant to Arsenic and Heavy Metals after the Toxic Spill ´ Llar Pyrite Mine at the Aznalco.” 37:1131–40.

Carrasco, Francisco, J. Ángel, and Menéndez Díaz. n.d. Francisco Carrasco y J. Ángel Menéndez Díaz (Coordinadores).

Carvalho, Isabel T., and Lúcia Santos. 2016. “Antibiotics in the Aquatic Environments: A Review of the European Scenario.” Environment International 94:736–57.

Chen, Jun, Lu-Xi He, Yu-Xiao Cheng, Pu Ye, Dai-Ling Wu, Zhan-Qiang Fang, Jie Li, and Guang-Guo Ying. 2020. “Trace Analysis of 28 Antibiotics in Plant Tissues (Root, Stem, Leaf and Seed) by Optimized

QuEChERS Pretreatment with UHPLC-MS/MS Detection.” Journal of Chromatography B 1161:122450.

Chen, Meijuan, Jie Yao, Yu Huang, Han Gong, and Wei Chu. 2018. “Enhanced Photocatalytic Degradation of Ciprofloxacin over Bi2O3/(BiO)2CO3 Heterojunctions: Efficiency, Kinetics, Pathways, Mechanisms and Toxicity Evaluation.” Chemical Engineering Journal 334:453–61.

Dickison, William C. 2000. “3 - Tissue Organization in Stems, Leaves, and Roots.” Pp. 121–59 in, edited by W. C. B. T.-I. P. A. Dickison. Burlington: Academic Press.

Ding, Guo Chun, Viviane Radl, Brigitte Schloter-Hai, Sven Jechalke, Holger Heuer, Kornelia Smalla, and Michael Schloter. 2014. “Dynamics of Soil Bacterial Communities in Response to Repeated Application of Manure Containing Sulfadiazine.” PLoS ONE 9(3).

Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria (DICTA). 2016. Manejo de Suelos Ácidos de Las Zonas Altas de Honduras.

Ebert, Ina, Jean Bachmann, Ute Kühnen, Anette Küster, Carola Kussatz, Dirk Maletzki, and Christoph Schlüter. 2011. “Toxicity of the Fluoroquinolone Antibiotics Enrofloxacin and Ciprofloxacin to Photoautotrophic Aquatic Organisms.” Environmental Toxicology and Chemistry 30(12):2786–92.

Eloka-Eboka, Andrew C., Joseph K. Bwapwa, and Semakula Maroa. 2020. “Biomass for CO2 Sequestration.” Pp. 277–90 in, edited by S. Hashmi and I. A. B. T.-E. of R. and S. M. Choudhury. Oxford: Elsevier.

Emilia, Laura, Cerón Rincón, Fabio Ancízar, and Aristizábal Gutiérrez. 2012. “Dinámica Del Ciclo Del Nitrógeno y Fósforo En Suelos Nitrogen and Phosphorus Cycles Dynamics in Soils.” 285–95.

Evans-Roberts, Katherine M., Lesley A. Mitchenall, Melisa K. Wall, Julie Leroux, Joshua S. Mylne, and Anthony Maxwell. 2016. “DNA Gyrase Is the Target for the Quinolone Drug Ciprofloxacin in Arabidopsis Thaliana*.” Journal of Biological Chemistry 291(7):3136–44.

Flórez-Delgado, Dixon Fabián. 2015. “LA ALFALFA (Medicago Sativa): ORIGEN, MANEJO Y PRODUCCIÓN.” Conexagro 5:27–43.

French, Elizabeth, Jessica A. Kozlowski, Maitreyee Mukherjee, George Bullerjahn, and Annette Bollmann. 2012. “Ecophysiological Characterization of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria from Freshwater.” Applied and Environmental Microbiology 78(16):5773–80.

Gao, Pin, Mariya Munir, and Irene Xagoraraki. 2012. “Correlation of Tetracycline and Sulfonamide Antibiotics with Corresponding Resistance Genes and Resistant Bacteria in a Conventional Municipal Wastewater Treatment Plant.” Science of the Total Environment 421–422:173–83.

García, Sergio Calvo. 2011. “Bacterias Simbióticas Fijadoras de Nitrógeno.” Ct 3:173–86.

Gomes, Marcelo Pedrosa, Júlio César Moreira de Brito, Elisa Monteze Bicalho, Janaína Guernica Silva, Maria de Fátima Gomides, Queila Souza Garcia, and Cleber Cunha Figueredo. 2018. “Ciprofloxacin vs. Temperature: Antibiotic Toxicity in the Free-Floating Liverwort Ricciocarpus Natans from a Climate Change Perspective.” Chemosphere 202:410–19.

Gomes, Marcelo Pedrosa, Júlio César Moreira de Brito, Marília Mércia Lima Carvalho Carneiro, Mariem Rodrigues Ribeiro da Cunha, Queila Souza Garcia, and Cleber Cunha Figueredo. 2018. “Responses of the

Nitrogen-Fixing Aquatic Fern Azolla to Water Contaminated with Ciprofloxacin: Impacts on Biofertilization." Environmental Pollution 232:293–99.

Gomes, Marcelo Pedrosa, Cíntia Almeida Gonçalves, Júlio César Moreira de Brito, Amanda Miranda Souza, Fernanda Vieira da Silva Cruz, Elisa Monteze Bicalho, Cleber Cunha Figueredo, and Queila Souza Garcia. 2017. "Ciprofloxacin Induces Oxidative Stress in Duckweed (Lemna Minor L.): Implications for Energy Metabolism and Antibiotic-Uptake Ability." Journal of Hazardous Materials 328:140–49.

Gomes, Marcelo Pedrosa, Vinícius Sobrinho Richardi, Elisa Monteze Bicalho, Daiane Cristina da Rocha, Mário Antônio Navarro-Silva, Patrícia Soffiatti, Queila Souza Garcia, and Bruno Francisco Sant'Anna-Santos. 2019. "Effects of Ciprofloxacin and Roundup on Seed Germination and Root Development of Maize." Science of the Total Environment 651(October 2018):2671–78.

Gomes, Marcelo Pedrosa, Daiane Cristina Rocha, Júlio César Moreira de Brito, Davi Santos Tavares, Raizza Zorman Marques, Patrícia Soffiatti, and Bruno Francisco Sant'Anna-Santos. 2020. "Emerging Contaminants in Water Used for Maize Irrigation: Economic and Food Safety Losses Associated with Ciprofloxacin and Glyphosate." Ecotoxicology and Environmental Safety 196:110549.

Grenni, Paola, Valeria Ancona, and Anna Barra Caracciolo. 2018. "Ecological Effects of Antibiotics on Natural Ecosystems: A Review." Microchemical Journal 136:25–39.

Hachana, Amira, Imen Hemissi, Amir Souissi, Boulbaba L'Taief, Neila Abdi, Manel Bouraoui, Rahmah N. Al-Qthanin, Hanen Arfaoui, and Bouaziz Sifi. 2021. "Patterns for Pea-Rhizobium Symbiosis Efficiency Response to Pedological and Varietal Variations in Tunisia." Rhizosphere 17:100304.

Han, Ping, Cheng Li, Anxiang Lu, Yunxia Luan, Jihua Wang, Jiayi Chen, and Zhihong Ma. 2015. “Occurrence of Antibiotics in Soils and Manures from Greenhouse Vegetable Production Bases of Beijing, China and an Associated Risk Assessment.” Science of The Total Environment 521–522:101–7.

Harrabi, Malek, Saulo Varela Della Giustina, Fatma Aloulou, Sara Rodriguez-Mozaz, Damià Barceló, and Boubaker Elleuch. 2018. “Analysis of Multiclass Antibiotic Residues in Urban Wastewater in Tunisia.” Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management 10(May):163–70.

Hernández, F., N. Calısto-Ulloa, C. Gómez-Fuentes, M. Gómez, J. Ferrer, G. González-Rocha, H. Bello-Toledo, A. M. Botero-Coy, C. Boıx, M. Ibáñez, and M. Montory. 2019. “Occurrence of Antibiotics and Bacterial Resistance in Wastewater and Sea Water from the Antarctic.” Journal of Hazardous Materials 363(October 2018):447–56.

Hou, Lijun, Guoyu Yin, Min Liu, Junliang Zhou, Yanling Zheng, Juan Gao, Haibo Zong, Yi Yang, Lei Gao, and Chunfu Tong. 2015. “Effects of Sulfamethazine on Denitrification and the Associated N<inf>2</Inf>O Release in Estuarine and Coastal Sediments.” Environmental Science and Technology 49(1):326–33.

Hu, Xiangang, Qixing Zhou, and Yi Luo. 2010. “Occurrence and Source Analysis of Typical Veterinary Antibiotics in Manure, Soil, Vegetables and Groundwater from Organic Vegetable Bases, Northern China.” Environmental Pollution 158(9):2992–98.

Investigacion, Instituto de Evaluacion de Tecnologias en Salud e. 2019. “INVESTIGACIÓN – IETSI RECOMENDACIONES PARA LA PREPARACIÓN Y.”

Jayampathi, Tharuka, Thilakshani Atugoda, and Chamila Jayasinghe. 2019. Uptake and Accumulation of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Leafy Vegetables. Elsevier Inc.

Joshi, Samiksha, Vandana Jaggi, Saurabh Gangola, Arjun Singh, V. K. Sah, and Manvika Sahgal. 2021. “Contrasting Rhizosphere Bacterial Communities of Healthy and Wilted Dalbergia Sissoo Roxb. Forests.” Rhizosphere 17:100295.

Kopittke, Peter M., Neal W. Menzies, Peng Wang, Brigid A. Mckenna, and Enzo Lombi. 2019. “Soil and the Intensi Fi Cation of Agriculture for Global Food Security.” Environment International 132(July):105078.

Korolkovas, Andrejus., Joseph Harold. Burckhalter, Juan Bosch Cartes, and Joseph H. Burckhalter. 1983. Compendio Esencial de Química Farmacéutica. Reverté.

Kostich, Mitchell S., Angela L. Batt, and James M. Lazorchak. 2014. “Concentrations of Prioritized Pharmaceuticals in Effluents from 50 Large Wastewater Treatment Plants in the US and Implications for Risk Estimation.” Environmental Pollution 184:354–59.

Leung, H. W., T. B. Minh, M. B. Murphy, James C. W. Lam, M. K. So, Michael Martin, Paul K. S. Lam, and B. J. Richardson. 2012. “Distribution, Fate and Risk Assessment of Antibiotics in Sewage Treatment Plants in Hong Kong, South China.” Environment International 42(1):1–9.

Liu, Feng, Guang-Guo Ying, Ran Tao, Jian-Liang Zhao, Ji-Feng Yang, and Lan-Feng Zhao. 2009. “Effects of Six Selected Antibiotics on Plant Growth and Soil Microbial and Enzymatic Activities.” Environmental Pollution 157(5):1636–42.

Liu, Lin, Yu-hong Liu, Chao-xiang Liu, Zhen Wang, Jian Dong, Ge-fu Zhu, and Xu Huang. 2013. “Potential Effect and Accumulation of Veterinary Antibiotics in Phragmites Australis under Hydroponic Conditions.” Ecological Engineering 53:138–43.

Marion, Opatowski, Brun-Bruisson Christian, Touat Mehdi, and Salomon Jerome. 2021. “Antibiotic Prescriptions and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Patients Hospitalized with Urinary Tract Infectionr.Pdf.”

Marques, Raizza Zorman, Natalia Wistuba, Júlio César Moreira Brito, Vinícius Bernardoni, Daiane Cristina Rocha, and Marcelo Pedrosa Gomes. 2021. “Crop Irrigation (Soybean, Bean, and Corn) with Enrofloxacin-Contaminated Water Leads to Yield Reductions and Antibiotic Accumulation.” Ecotoxicology and Environmental Safety 216(February):112193.

Massé, Daniel I., Noori M. Cata Saady, and Yan Gilbert. 2014. “Potential of Biological Processes to Eliminate Antibiotics in Livestock Manure: An Overview.” Animals 4(2):146–63.

Matamoros, Víctor, Benjamin Piña, Goffe Elsinga, Francisco Cerqueira, Josep Bayona, and Luc M. Hornstra. 2018. “Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Soils and Crops. A Field Study in Legume Plants (Vicia Faba L.) Grown under Different Watering Regimes.” Environmental Research 170(December 2018):16–25.

Mayer, Christian, Peter Sass, and Heike Brötz-Oesterhelt. 2019. “Consequences of Dosing and Timing on the Antibacterial Effects of ADEP Antibiotics.” International Journal of Medical Microbiology 309(7):151329.

Melotto, Maeli, William Underwood, and Sheng Yang He. 2008. “Role of Stomata in Plant Innate Immunity and Foliar Bacterial Diseases.” Annual Review of Phytopathology 46:101–22.

Mendes, Kassio Ferreira, Rodrigo Nogueira de Sousa, Vanessa Takeshita, Felipe Gimenes Alonso, Ana Paula Justiniano Régo, and Valdemar Luiz Tornisielo. 2019. “Cow Bone Char as a Sorbent to Increase Sorption and Decrease Mobility of Hexazinone, Metribuzin, and Quinclorac in Soil.” Geoderma 343(February):40–49.

Michelini, L., Ruediger Reichel, W. Werner, R. Ghisi, and S. Thiele-Bruhn. 2012. “Sulfadiazine Uptake and Effects on Salix Fragilis L. and Zea Mays L. Plants.” Water, Air, & Soil Pollution 223(8):5243–57.

Migliore, Luciana, Alice Rotini, Nadia L. Cerioli, Salvatore Cozzolino, and Maurizio Fiori. 2010. “Phytotoxic Antibiotic Sulfadimethoxine Elicits a Complex Hormetic Response in the Weed Lythrum Salicaria L.” Dose-Response 8(4):dose-response.

Ministerio del Ambiente. 2009. “Tratamiento y Reuso de Aguas Residuales.” Manual Para Municipios Ecoeficientes (511):179.

Moreira, Adônis, Alberto Carlos de Campos Bernardi, Joaquim Bartolomeu Rassini, Reinaldo de Paula Ferreira, and Patrícia Perondi Anchão de Oliveira. 2007. “Fertilidade Do Solo e Estado Nutricional Da Alfafa Cultivada Nos Trópicos.”

Moreno, M., M. Peña, and R. Álvarez. 2017. “Implementación Del Método Para La Determinación de Isótopos Estables de Carbono (δ 13 C) En Carbones Mediante Espectrometría de Masas de Relaciones Isotópicas (IRMS) Implementation of the Method for the Determination of Stable Isotopes of Carbon (δ 1.” 50–59.

Noyola A., Morgan J., Guereca L. 2013. Contacto : Idrc@pumas.Ii.Unam.Mx.

OEFA. 2014. AGUAS. Lima.

Oliveira, Rafael S., Julio Cezar, Fornazier Moreira, Mauro Brum, Lidiane Cordeiro, De Almeida, and Silvia Barrera-berdugo. 2021. “Asymbiotic Nitrogen Fixation in the Phyllosphere of the Amazon Forest : Changing Nitrogen Cycle Paradigms Science of the Total Environment Asymbiotic Nitrogen Fi Xation in the Phyllosphere of the Amazon Forest : Changing Nitrogen Cycle Paradigms.” Science of the Total Environment 773(February):145066.

Ollivier, Julien, Daniela Schacht, Reimo Kindler, Joost Groeneweg, Marion Engel, Berndt Michael Wilke, Kristina Kleineidam, and Michael Schloter. 2013. “Effects of Repeated Application of Sulfadiazine-Contaminated Pig Manure on the Abundance and Diversity of Ammonia and Nitrite Oxidizers in the Root-Rhizosphere Complex of Pasture Plants under Field Conditions.” Frontiers in Microbiology 4(FEB):1–14.

OMS. 2018. “Resistencia a Los Antibióticos.” Retrieved March 27, 2019 (https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos).

Opriş, Ocsana, Florina Copaciu, Maria Loredana Soran, Dumitru Ristoiu, Ülo Niinemets, and Lucian Copolovici. 2013. “Influence of Nine Antibiotics on Key Secondary Metabolites and Physiological Characteristics in Triticum Aestivum: Leaf Volatiles as a Promising New Tool to Assess Toxicity.” Ecotoxicology and Environmental Safety 87:70–79.

Pan, Min, and L. M. Chu. 2018. “Occurrence of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Soils from Wastewater Irrigation Areas in the Pearl River Delta Region, Southern China.” Science of the Total Environment 624:145–52.

Parsa, Jalal Basiri, Taher Mehdi Panah, and Farideh Nabizadeh Chianeh. 2016. “Removal of Ciprofloxacin from Aqueous Solution by a Continuous Flow Electro-Coagulation Process.” Korean Journal of Chemical Engineering 33(3):893–901.

Pascual Anderson, María del Rosario., and Vicente. Calderón y Pascual. 2000. Microbiología Alimentaria : Metodología Analítica Para Alimentos y Bebidas. Ediciones Díaz de Santos.

Payton, Kurlen S. E., and Marissa A. Brunetti. 2021. “Antibiotic Stewardship in Pediatrics.” Advances in Pediatrics.

Piña, Benjamin, Josep M. Bayona, Anastasis Christou, Despo Fatta-Kassinos, Emmanuel Guillon, Dimitra Lambropoulou, Costas Michael, Fabio Polesel, and Stéphanie Sayen. 2020. “On the Contribution of Reclaimed Wastewater Irrigation to the Potential Exposure of Humans to Antibiotics, Antibiotic Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes – NEREUS COST Action ES1403 Position Paper.” Journal of Environmental Chemical Engineering 8(1):102131.

Piotrowicz-Cieślak, Agnieszka I., Barbara Adomas, Grzegorz Nałęcz-Jawecki, and Dariusz J. Michalczyk. 2010. “Phytotoxicity of Sulfamethazine Soil Pollutant to Six Legume Plant Species.” Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A 73(17–18):1220–29.

Pourbabaee, Ahmad Ali, Maryam Khazaei, Hossein Ali Alikhani, and Somayeh Emami. 2021. “Rhizosphere Root Nodulation of Alfalfa by Ensifer Meliloti in Petroleum Contaminated Soil.” Rhizosphere 17(December 2020):100305.

Rahman, M. Mizanur, Jun Shan, Pinpin Yang, Xiaoxia Shang, Yongqiu Xia, and Xiaoyuan Yan. 2018. “Effects of Long-Term Pig Manure Application on Antibiotics, Abundance of Antibiotic Resistance Genes

(ARGs), Anammox and Denitrification Rates in Paddy Soils." Environmental Pollution 240:368–77.

Rocha, Daiane Cristina, Camila da Silva Rocha, Davi Santos Tavares, Sabrina Loise de Morais Calado, and Marcelo Pedrosa Gomes. 2021. "Veterinary Antibiotics and Plant Physiology: An Overview." Science of the Total Environment 767:144902.

Saad, Sulieman; Lam-Son, Phan Tran. 2017. Legume Nitrogen Fixation in Soils with Low Phosphorus Availability.

Shan, Jun, Pinpin Yang, M. Mizanur Rahman, Xiaoxia Shang, and Xiaoyuan Yan. 2018. "Tetracycline and Sulfamethazine Alter Dissimilatory Nitrate Reduction Processes and Increase N2O Release in Rice Fields." Environmental Pollution 242:788–96.

Tasho, R. P., W. T. Shin, and J. Y. Cho. 2018. "Acclimatization of Pisum Sativum L., Grown in Soil Contaminated with Veterinary Antibiotics, an Attribute of Dose Hormetic Response of Root Metabolites." Science of The Total Environment 635:364–74.

Tasho, Reep Pandi, and Jae Yong Cho. 2016. "Veterinary Antibiotics in Animal Waste, Its Distribution in Soil and Uptake by Plants: A Review." Science of the Total Environment 563–564(3):366–76.

Tilak, K. V. B. R., N. Ranganayaki, K. K. Pal, A. K. Saxena, C. Shekhar Nautiyal, Shilpi Mittal, A. K. Tripathi, and B. N. Johri. n.d. "Diversity of Plant Growth and Soil Health Supporting Bacteria."

Tolls, Johannes. 2001. "Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review." Environmental Science & Technology 35(17):3397–3406.

Trivedi, Paras, and Dharni Vasudevan. 2007. “Spectroscopic Investigation of Ciprofloxacin Speciation at the Goethite− Water Interface.” Environmental Science & Technology 41(9):3153–58.

Valderrama, J. 2018. “Prevalencia Del Uso de Antibióticos En Pacientes Atendidos En El Hospital ESSALUD La Esperanza - Trujillo. Octubre 2017 - Enero 2018.”

Verma, Renu, Harika Annapragada, Nalini Katiyar, Nalini Shrutika, Krishnasis Das, and Senthilkumar Murugesan. 2020. “Chapter 4 - Rhizobium.” Pp. 37–54 in, edited by N. Amaresan, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, and A. B. T.-B. M. in A.-E. Sankaranarayanan. Academic Press.

Wen, Bei, Yu Liu, Peng Wang, Tong Wu, Shuzhen Zhang, Xiaoquan Shan, and Jingfen Lu. 2012. “Toxic Effects of Chlortetracycline on Maize Growth, Reactive Oxygen Species Generation and the Antioxidant Response.” Journal of Environmental Sciences 24(6):1099–1105.

Xie, Xiujie, Qixing Zhou, Dasong Lin, Jianmian Guo, and Yanyu Bao. 2011. “Toxic Effect of Tetracycline Exposure on Growth, Antioxidative and Genetic Indices of Wheat (Triticum Aestivum L.).” Environmental Science and Pollution Research 18(4):566–75.

Xu, Weihai, Gan Zhang, Xiangdong Li, Shichun Zou, Ping Li, Zhaohui Hu, and Jun Li. 2007. “Occurrence and Elimination of Antibiotics at Four Sewage Treatment Plants in the Pearl River Delta (PRD), South China.” Water Research 41(19):4526–34.

Yan, Yan, Yangzang Pengmao, Xiaoguang Xu, Limin Zhang, Guoxiang Wang, Qiu Jin, and Liangang Chen. 2020. “Migration of Antibiotic Ciprofloxacin during Phytoremediation of Contaminated

Water and Identification of Transformation Products.” Aquatic Toxicology 219:105374.

Yang, Lian, Qinxue Wen, Yaqi Zhao, Zhiqiang Chen, Qiong Wang, and Helmut Bürgmann. 2019. “New Insight into Effect of Antibiotics Concentration and Process Configuration on the Removal of Antibiotics and Relevant Antibiotic Resistance Genes.” Journal of Hazardous Materials 373(December 2018):60–66.

VIII. ANEXOS

Anexo 1 Etapas de crecimiento de alfalfa

Figura 26

Instalación de experimento



Figura 27

Plantas emergiendo de la nueva siembra



Figura 28

Raleo de siembra



Figura 29

Primera aplicación de producto



Figura 30

Segunda aplicación de producto



Figura 31

Tercera aplicación del producto



Figura 32

Cuarta aplicación del producto



Figura 33

Quinta aplicación del producto



Figura 34

Sexta aplicación del producto



Anexo 2 Día de la cosecha

Figura 35

Verificación de la presencia de nódulos en el testigo.



Figura 36

Alfalfa día de cosecha de experimento



Figura 37

Separación de raíz del suelo



Figura 38

Medición de raíz



Figura 39

Medición desde la base del tallo hasta la punta de las hojas



Figura 40

Comparación de tratamiento y testigo



Figura 41

División de planta y raíces por corte



Figura 42

Conteo de nódulos



Figura 43

Tamizado de suelo para análisis de nitrógeno



Figura 44

Muestras de alfalfa colocadas a la estufa por 24 horas



Figura 45

Sobres para muestras procesadas



Figura 46

Proceso de molienda de raíz para análisis de carbón

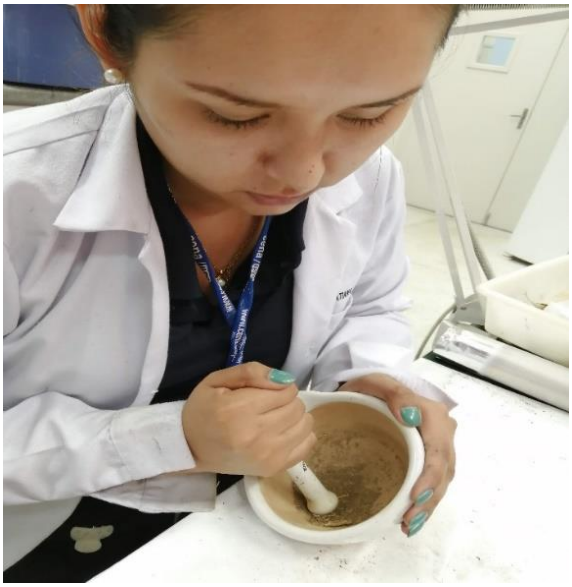


Figura 47

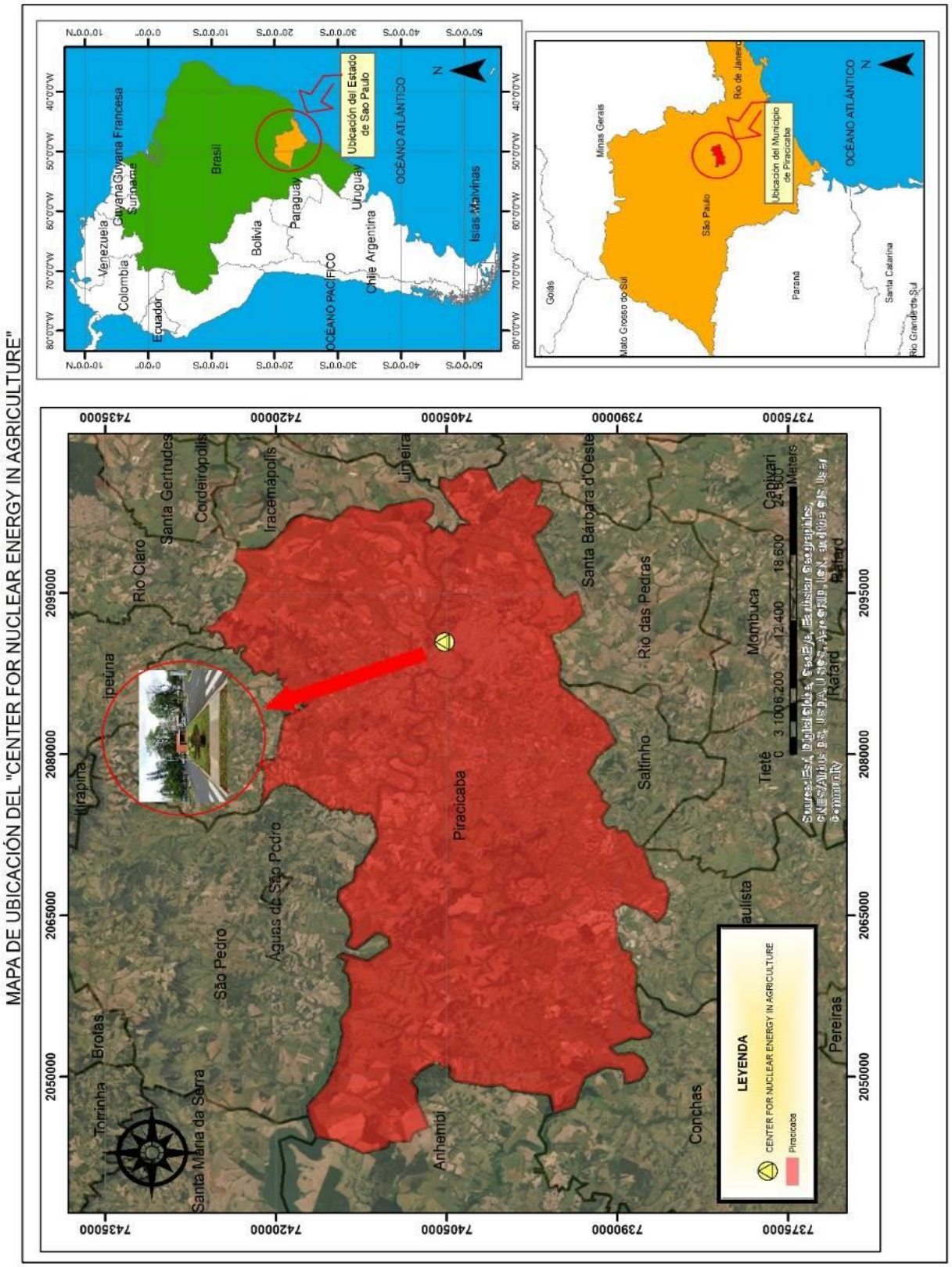
Tamizado de hojas y raíz a 2 mm



Anexo 3 Mapa de Ubicación Centro de Energía Nuclear na Agricultura CENA – USP

Figura 48

Lugar del experimento.



Anexo 4 Análisis físico de suelo

Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Avenida Centenário , 303
São Dimas
13.400-970 - Piracicaba - SP

Número: 0015015.1-N - O.S.: 8883
Data de Recebimento: 29/05/2019
Data de Finalização: 04/06/2019 **Data de Emissão:** 04/06/2019

Proprietário:	Propriedade:	Material:
Centro de Energia Nuclear na Agricultura	Lab. Ecotoxicologia	Solos

Nº LAB	IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA
7842	Amostra Única (Leonardo Junqueira); (não informada)

DETERMINAÇÕES	UNIDADES	AMOSTRAS
		7842
AT	g kg⁻¹	691
Silte	g kg⁻¹	48
Argila (c/ disp)	g kg⁻¹	261
Classe de Textura	-	md-arg

Métodos: Buyoucos (densímetro) (SSSA Book Series 5. Methods of Soil Analysis, Part 4). Classe de diâmetros (mm) conforme USDA:
(A) Cinco frações de areia:
muito grossa (MG) = 2 a 1; grossa (G) = 1 a 0,5; média (M) = 0,5 a 0,25; fina (F) = 0,25 a 0,10; muito fina (MF) = 0,10 a 0,05;
Areia total (AT) = 2 a 0,05; silte = 0,05 a 0,002; argila total < 0,002; argila água < 0,002.
(B) Duas frações de areia:
grossa (G) = 2 a 0,25; fina (F) = 0,25 a 0,05; areia total (AT) = 2 a 0,05; silte = 0,05 a 0,002; argila total < 0,002.
Classe de textura = Argila (c/ dispersante) até 149 g/kg = arenosa (ar); 150 a 249 g/kg = média arenosa (md-ar); 250 a 349 g/kg = média argilosa (md-arg); 350 a 599 g/kg = argilosa (arg); 600 g/kg ou superior = muito argilosa (mt-arg).

SIGNATÁRIO AUTORIZADO
Sr. Reginaldo Catalino Nogueira

Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba-SP - CEP 13418-900 - Tel.: (19) 3417-2117 / 3417-2159 - lso.lab@usp.br - www.esalqsolos.com.br

Activar Wi
Ir a Configurac

Anexo 5 Analisis químico de suelo

Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Avenida Centenário , 303
São Dimas
13.400-970 - Piracicaba - SP

Número: 0015014.1-A - O.S.: 8883
Data de Recebimento: 29/05/2019
Data de Finalização: 06/06/2019 **Data de Emissão:** 07/06/2019

Proprietário:	Propriedade:	Material:
Centro de Energia Nuclear na Agricultura	Lab. Ecotoxicologia	Solos

Nº LAB	IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA
7842	Amostra Única (Leonardo Junqueira); (não informada)

Ensaios NBR ISO/IEC 17025
CRL 0543

DETERMINAÇÕES	UNIDADES	AMOSTRAS
		7842
pH CaCl2	-	5,3
M.O. Colorimétrica	g.dm^{-3}	67
P Resina	mg.dm^{-3}	77
K Resina	mmolc.dm^{-3}	10,6
Ca Resina	mmolc.dm^{-3}	41
Mg Resina	mmolc.dm^{-3}	20
H+Al SMP	mmolc.dm^{-3}	28
SB	mmolc.dm^{-3}	71,6
CTC	mmolc.dm^{-3}	99,6
V	%	72

Métodos: pH em CaCl2 0,01 mol L^{-1}; fósforo (P) método colorimétrico extraído com resina trocadora de íons, potássio (K) extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de emissão atômica, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) extração com resina trocadora de íons e determinação em espectrofotômetro de absorção atômica, acidez potencial (H+Al) extraído com tampão SMP (Manual de análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. IAC, 2001). SB: Soma de bases trocáveis; CTC: Capacidade de troca de cátions; V: Saturação da CTC por bases. Observações: Nome do cliente, informações de contato, proprietário, propriedade, material e identificação da amostra são dados fornecidos pelo cliente. Este documento pode ser reproduzido somente por completo. Os resultados se referem somente aos itens ensaiados. Os resultados se aplicam à amostra conforme recebida. (#) elemento não determinado; (<) menor do que o Limite de Quantificação.

SIGNATÁRIO AUTORIZADO
Sr. Luiz Antônio Silva Júnior
Responsável Técnico

Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba-SP - CEP 13418-900 - Tel.: (19) 3417-2117 / 3417-2159 - lso.lab@usp.br - www.esalqsolos.com.br

Activar Win
Ir a Configura

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA PARA TESIS AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN DEL ACCESO ABIERTO DE LA UNAM

VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con el Decreto Legislativo N° 822, sobre la Ley de los Derechos de Autor, Ley N° 30035 del Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto de la UNAM aprobada mediante la Resolución de C.O. N° 0158-2016-UNAM.

1. DATOS PERSONALES DEL AUTOR

Apellidos y Nombres: LAURA PONCE TATIANA EDITH
D.N.I.: 76950401
Otro Documento:
Nacionalidad: PERUANA
Teléfono: 952002162
e-mail: tatiana.l.pe@hotmail.com

2. DATOS ACADÉMICOS

Escuela Profesional: INGENIERIA AMBIENTAL
Grado Académico otorgado: TITULO PROFESIONAL
Título Profesional otorgado: INGENIERO AMBIENTAL
Tesis (Pregrado y/o Postgrado): PREGRADO
Modalidad de Titulación: TESIS

3. DATOS DE LA TESIS

Título de la tesis: EFECTO DE CIPROFLOXACINO SOBRE LA PRODUCCION DE BIOMASA DE ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)
Fecha de Sustentación: 12 DE NOVIEMBRE DEL 2021
Calificación: (15) QUINCE
Año de Publicación: 2021

4. DATOS DEL ASESOR

Apellidos y Nombres: ZIRENA VILCA FRANZ
D.N.I.: 01341834
Otro Documento:
Nacionalidad: PERUANA
Teléfono: 956753735
e-mail: FZIRENAV@UNAM.EDU.PE

5. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN VERSIÓN ELECTRÓNICA

A través de la presente, autorizo la publicación del texto completo de la tesis, en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua para su explotación no exclusiva, ilimitada, perpetua y con alcance mundial, a favor de la Universidad Nacional de Moquegua.

Según el Reglamento de la Ley Nº 30035, Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto DECRETO SUPREMO N° 006-2015-PCM "TÍTULO IV GESTIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL Y DE LOS DATOS PERSONALES; *Artículo 10º.- De los Derechos: Esta cesión de derechos comprende, mas no se limita, a los derechos de reproducción, comunicación al público, distribución, traducción, adaptación, arreglo, edición, modificación, cambio de formato u otra transformación, importación al territorio nacional de copias por cualquier medio incluyendo la transmisión, así como cualquier otra forma de utilización de las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo que no estén contempladas en la ley de la materia como excepción al derecho patrimonial y, en general, para cualquier tipo de utilización y explotación, que la entidad estime pertinentes, en cualquier forma o procedimiento, conocido o por conocerse, pudiendo poner a disposición las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo por medio de autorizaciones o licencias a favor del público en general."*

Sin perjuicio de otras obligaciones a su cargo, EL AUTOR deberá entregar una versión digital final de la TESIS sin ninguna medida tecnológica efectiva ni sistema de auto tutela, sin contraseña ni restricción, de acuerdo con los lineamientos establecidos por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) en relación con el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto. Cuando las obras contengan en parte o consistan en programas de ordenador o software, además deberá entregar el código fuente, código objeto, documentación técnica y manuales. Lo dispuesto en relación con los programas de ordenador no se aplicará cuando la entidad pública sea sólo licenciataria del software.

Para facilitar la divulgación y alcance nacional e internacional de los resultados de las investigaciones en materia de ciencia, tecnología e innovación contenidos en los repositorios institucionales y en el Repositorio Nacional Digital, se autoriza la traducción automática a otros idiomas y dialectos por medio de programas de ordenador de las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo, así como de los metadatos de los mismos. En caso de ser fijadas o reproducidas, se deberá incluir expresamente que se trata de traducciones hechas por medios informáticos, con fines ilustrativos o referenciales.

Firma y huella digital: _____



Fecha de autorización: 30 / 12 / 2021