



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Evaluación de la *Cannabis Sativa Industrializada L* (cáñamo industrial), en la restauración de suelos contaminados con metales pesados.

Nombre: Benjamín Lara

Fecha: 14 de diciembre de 2018

Profesor guía: Fabiola Rodríguez



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Resumen

La contaminación puede presentarse de muchas formas. Una de las formas más comunes de contaminación es la alta presencia de metales pesados en el suelo, producido principalmente, por actividades industriales, las consecuencias causadas por este tipo de contaminación son el deterioro de los minerales del suelo, el endurecimiento de éste y la infertilidad e imposibilidad de ser utilizado como bien de consumo, producto de los desechos de metales pesados de las empresas, el mal manejo de las aguas residuales, la sobre explotación del suelo con fertilizantes, la lluvia ácida producto de las emanaciones de gases ácidos, entre otros. En respuesta a esta problemática se han estudiado y desarrollado distintos métodos, uno de los más interesantes y beneficiosos es la fito-remediación, el cual consiste en usar plantas que tienen una alta capacidad para extraer los metales pesados y otras sustancias contaminantes alojadas en el suelo y transformarlas en sustancias inocuas. Debido a que estas plantas cuentan con propiedades fisiológicas, que le permiten tolerar altos niveles de toxicidad en el suelo, penetrar suelos endurecidos y desarrollarse en suelo empobrecidos. Aquellas plantas que poseen estas propiedades se le conocen como plantas híper-acumuladoras. Unas de las problemáticas que plantean estos métodos es que este tipo de plantas no poseen ningún valor económico.

Una de las excepciones en este tipo de plantas es la *Cannabis sativa* L (cáñamo industrial), una variante de la cannabis con niveles muy bajos de THC, que a lo largo de la historia ha servido a la humanidad, de una alta gama de materiales que van desde papel, vestimenta, material de construcción, biocombustible hasta en la industria automotriz.

Por lo tanto, según lo mencionado anteriormente, la cannabis sativa industrializada puede traer la respuesta que se necesita para los sitios en donde los suelos están contaminados, mientras que provee de materiales que día a día la sociedad necesita y utiliza.

Palabras clave: *Contaminación, fito-remediación, híper-acumuladoras, cannabis sativa industrial.*



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Índice

Siglas y Simbología.....p. 5

Capítulo I: Fundamentos Teórico

Medio

Ambiente.....p.10

Ecología.....p.10

Ecosistema.....p.10

Contaminación y desgaste de los suelos.....p.11

Desgaste de suelos.....p.12

Cannabis Industrial Sativa L.....p.13

Cannabinoides.....p.13

Endo-cannabinoides.....p.13

Cannabinoides Sintéticos.....p.13

Fito-cannabinoides.....p.13

Tetrahydrocannabinol o THC.....p.13

Cannabidiol o CBD.....p.14



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Capítulo II: Propiedades Físicoquímicas de la *Cannabis sativa* L. y sus mecanismos de descontaminación de los suelos.

Diferencia en la composición química de las variantes de cannabis.....	p.16
Características de la planta de cáñamo.....	p.19.
Propiedades físicas.....	p.19
Plantas híper-acumuladoras.....	p.19
Fito-remediación y sus conceptos asociados.....	p.10.
Uso de la planta de cáñamo.....	p.21
Ejemplos de la utilización de cáñamo industrial para la restauración de suelos contaminados.....	p.22

Capítulo III: Estudios de la *Cannabis sativa* L. en suelos contaminados y/o desgastados

Capacidad de acumulación del cáñamo en las raíces y en las hojas de distintos tipos de metales pesados.....	p.24.
Estudio del cultivo de tabaco junto con la rotación con cáñamo.....	p.25.
Muestras de cáñamo hojas de cáñamo plantados cerca de las fábricas textiles de Kohi Noor, Rawalpindi, Pakistán.....	p.27.
Identificación de los genes supuestamente responsables de las respuestas adaptativas frente a altas concentraciones de metales pesados.....	p.29
Resumen de los estudios.....	p.31.
Tabla comparativa de los estudios menciona.....	p.33.

Conclusiones.....p.35.

Bibliografía.....p.36.



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Siglas

L	: Linneaus
THC	: 9-tetrahidrocannabinol
CBD	: Cannabidiol
RT-PCR	: Reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa inversa
GSR	: Glutation-disulfuro reductasa
PLD α	: Fosfolipasa D- α
ADNc	: ADN complementario

Simbología

Cd	: Cadmio
Cr	: Cromo
Co	: Cobalto
Cu	: Cobre
Ni	: Níquel
As	: Arsénico
Zn	: Zinc
Pb	: Plomo
Cm	: Centímetro
M	: Metro
Mm	: Milímetro
°C	: Grados Celsius
kg/ha	: Kilogramo/ hectárea
mg/kg	: Miligramo/kilogramo
pmol	: Picomol
ng	: Nanogramo
s	: Segundo
min	: Minuto
μ g	: Microgramo
NaCl	: Cloruro de sodio



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Introducción

El problema de la contaminación se ha ido acentuando con el correr de los años, ya que cada vez las consecuencias que ocasiona este fenómeno son más evidentes y graves. Una de las causas más comunes de contaminación es por la elevada concentración de metales pesados presentes en el suelo, lo cual puede generar una serie de problemas, que van desde la contaminación de los productos derivados del suelo, hasta la imposibilidad de ocupar el suelo como un bien de consumo. Existen una serie de factores que propician este tipo de contaminación, sin embargo se cree que la verdadera causa de este fenómeno, es por la acciones de las industrias y/o fabricas cuyas malas prácticas a la hora de desechar sus residuos, causan la contaminación de los suelos. Para poder hacer frente a este tipo de contaminación se han desarrollado una serie de tecnologías. De estas tecnologías, la fito-remediacion ha ido cobrando cada vez más atención, ya que ofrece un método relativamente sencillo, natural, sin efectos secundarios adversos para el ambiente, relativamente rápido y rentable en el ámbito costo-eficiencia

Objetivo general

Estudiar la contribución de la variante *Cannabis Sativa Industrial L*, respecto de la restauración de suelos contaminados con metales pesados

Objetivos Específicos

- Explicar las propiedades físico-químicas de la *Cannabis sativa L*.
- Determinar cómo reacciona la Cannabis sativa industrial L. frente a distintas concentraciones de metales pesados
- Identificar dos genes que forman parte de las respuestas adaptativas de las plantas híper-acumuladoras frente a altas concentraciones de metales pesados.



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA
Alcance

El estudio está dirigido a la capacidad de la *Cannabis Sativa Industrial* para la restauración de suelos contaminados con metales pesados

Datos históricos

La *Cannabis sativa* L. o también llamada cáñamo industrial ha estado del lado de la evolución de la humanidad desde hace varios milenios, esto debido a que es una planta muy fácil de manejar y producir, pero sobre todo porque entrega mucha Bío-masa útil, que puede utilizarse en distintos procesos que producen materiales que el ser humano necesita disponer día a día.[1]

Se estima que el cáñamo, fue una de las primeras plantas en ser “domesticada”, en China hay antecedentes que datan del 8000 a.C, indican que la planta se usaba ampliamente, para producir vestimentas, telas para las velas de los barcos, de hecho llego un punto en la historia en que el cáñamo era una de las plantas más importantes, hasta un 80% de los textiles estaban hechos de las fibras de cáñamo.[1]

Si bien en China en los tiempos antiguos la cannabis se utilizaba ampliamente para producir telas y vestimentas, también era reconocida como una planta “guía” en rituales espirituales y ceremonias ya que se conocían sus efectos psicoactivos en el cerebro, se utilizaba ampliamente en la medicina. Sin embargo en los países europeos esta faceta de la cannabis no fue muy popular ni tampoco bien recibida, de hecho el clero perseguía a las personas que usaban el cáñamo con fines medicinales. [1]

Sin embargo, no fue sino en 1914 que el cáñamo entro en declive, entre de los años 1914-1925, diferentes gobiernos promulgaron leyes que prohibían todo tipo de acciones en torno al cannabis, ya sea se tratase de marihuana o cáñamo. La prohibición mundial del cáñamo se produjo en 1961 después de que las Naciones Unidas acordó adoptar la “Convención Única sobre Estupefacientes”, acuerdo que exigía la prohibición del cultivo de cannabis para todo tipo de fines, además de categorizar la posesión de cannabis como un “delito punible”.



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Pese a todas estas dificultades en 1980 comenzó a aumentar la producción de cáñamo, ya que en al menos 47 países se han abierto a la producción de cannabis con fines industriales y de investigación.

Actualmente hay una infinidad de estudios que demuestran que la cannabis puede ser de una gran utilidad para la humanidad, capaz de utilizarse como materia prima en procesos que van desde el ámbito medicinal, hasta la industria del papel, construcción, entre otros. [2]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Capítulo I

Fundamentos teóricos



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Capítulo I: Fundamentos teóricos

1.1) Medio ambiente

En esta investigación entenderemos el concepto de Medio Ambiente como una red de interacciones geológicas y biológicas que determinan la relación entre la vida y el planeta tierra[3]. Sin embargo también corresponden a él las relaciones fundamentales del mundo material o biofísico (atmósfera, litósfera, hidrosfera, biosfera) con el mundo sociopolítico. Es un concepto antropomórfico, ya que es el ámbito en donde se dan lugar las relaciones de la especie humana. El medio ambiente se ha ido desarrollando de manera tal, que ha pasado de ser un tema considerado netamente físico y biológico, actualmente también es considerado un tema de índole económica y sociocultural. A razón de estos se consideran no solo problemática medio ambiental los clásicos problemas relacionados con la contaminación y el deterioro de la naturaleza, sino también con otros ligados a problemáticas sociales, culturales y económicas relacionadas con el modelo del desarrollo [3]. Frecuentemente se confunde este concepto con la, “ecología”. Conceptos que si bien, no son lo mismo, si están profundamente relacionados, es importante comprender estas diferencias ya que ambas se complementan junto con el concepto de ecosistema. A continuación un breve descripción de ecología y ecosistema.

Ecología: la ecología por otra parte, es un estudio a un nivel muy complejo de la organización de los seres vivos en un espacio denominado ecosistema; en otras palabras es la organización de las cuales todas las poblaciones y comunidades tienen un papel en el planeta. Así como también es una ciencia que estudia las relaciones interactivas entre los seres vivos y su medio. [4]

Ecosistema: Es un espacio físico concreto, compuesto además de todos los seres que conviven ahí, así como también las relaciones que se dan entre ellos. Todos los seres vivos se desarrollan en un ecosistema, algunos ejemplos de ecosistemas son: Bosques, estanques, ciudades, arrecifes y otros ejemplos de ecosistemas (a otras escalas) son nuestra propia piel, un árbol, por nombrar algunos. Es importante destacar que los ecosistemas no



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

son estáticos, por el contrario estos cambian y evolucionan constantemente, debido a los estímulos que recibe de ciertas condiciones determinadas. Otro punto importante a destacar, es que el ecosistema, además de estar compuestos o plantas y animales, también lo componen hongos, bacterias y elementos inorgánicos, cuyos roles en el ecosistema no son de menor perfil. [4]

1.2) Contaminación y desgaste de los suelos

1.2.1) Contaminación Ambiental

La contaminación es uno de los mayores problemas por los cuales atraviesa la sociedad. Esta puede afectar la calidad del suelo, de los recursos hídricos y del aire.

Una de las razones más comunes por la cual ocurre este fenómeno es por el aumento de los elementos traza, los cuales son elementos que si bien son esenciales y que están presentes en los suelos, en grandes cantidades tienen un efecto nocivo para el equilibrio de la vida presente en el ecosistema, algunos de estos elementos son: Arsénico (As), Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Cromo (Cr), Níquel (Ni), Cobalto (Co), Cobre (Cu), entre otros. Estos compuestos también son conocidos como metales pesados.

Para que ocurra una contaminación, el o los elementos contaminantes siempre deberán estar en proporciones mayores a las habituales, provocando efectos adversos sobre algunos organismos. Según el origen de la contaminación se clasifican en dos tipos: geogénico y antropogénico.

La contaminación de origen geogénico, puede ser provocada por la propia roca madre que se formó en el suelo, la actividad volcánica o del lixiviado de mineralizaciones. La contaminación de origen antropogénico, por el contrario deriva de las actividades industriales, agrícolas, mineras, residuos urbanos, entre otros. Son considerados los verdaderos elementos contaminantes. [5]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Si las plantas o animales crecen en condiciones, donde el agua y/o el suelo estén contaminados con metales pesados, provocara que sus derivados, como por ejemplo: hortalizas como la lechuga o el repollo, carnes, productos lácteos, entre otros, presenten concentraciones de estos elementos contaminantes, lo cual representa un gran peligro para la salud pública. Ya que estos elementos presentan una alta toxicidad, debido a la exposición prolongada o por la bio-acumulacion de metales pesados. Lo cual puede provocar, desde daño en los órganos vitales hasta desarrollos cancerígenos.

Ha habido varios casos que evidencian, los graves padecimientos de la ingesta de alimentos provenientes de cultivos en suelos contaminados. Un caso relacionado tuvo lugar en Japón, en la década de los cincuenta, la población ubicada en las riberas del rio Jintsu, aguas que se encontraban bajo una zona minera, vio afectada debido al consumo de arroz, los cuales tenían su origen en cultivos contaminados con cadmio, el cual procedía de las vertientes de las minas. La ingesta del arroz produjo una enfermedad conocida como Itai-Itai u *Osteoporosis*, la cual es una enfermedad que afecta principalmente al tejido oseo. [6]

1.2.2) Desgaste de los suelos

Es la reducción en su capacidad para proporcionar bienes y servicios del ecosistema, las acciones que desencadenan este fenómeno pueden ser de origen, biofísico y/o antrópico, lo que genera procesos que alteran las cualidades y características de la tierra, causando la incapacidad de la tierra de sostener adecuadamente las funciones económicas y ecológicas originales. Es un fenómeno el cual no se puede medir, haciendo necesario el uso de indicadores que permitan identificar cuando se está ante una degradación de suelo, un ejemplo bastante contundente es el descenso de la productividad de los cultivos [7]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

1.3) Cannabis Sativa Industrial/ Cáñamo/ Cannabis Sativa Industrial L.

Es una planta perteneciente a la familia: *Cannabaceae*, es una planta dioica con flores unisexuales, desarrolladas sobre individuos diferentes, siendo por lo tanto, “macho”, “hembra” o “hermafrodita”, es una herbácea anual, que utiliza el sol con una eficiencia muy considerable. El macho a comparación de la hembra es menos frondoso y más alto, cumpliendo su ciclo vital una vez es liberado el polen, en el caso de la hembra florece más tarde y su ciclo vital se extiende hasta la madurez de las semillas.[13]

1.3.1) Cannabinoides

Los cannabinoides son un compuesto químico que se procesan en los receptores de cannabinoides. Según su origen se pueden clasificar en: fito-cannabinoides, endo-cannabinoides y cannabinoides sintéticos. De los tipos de cannabinoides, los más relevantes para este documento son los fito-cannabinoides, ya que estos se encuentran en la *Cannabis Sativa Industrial*, además de servir para clasificar a la gran cantidad de variantes de la cannabis

Endo-cannabinoides o endógenos: Son producidos por los animales y los seres humanos.

Cannabinoides sintéticos: son elaborados en laboratorios, no proceden de origen natural. [8]

1.3.2) Fito-cannabinoides

Procede de la Cannabis Sativa L. Se han identificado cerca de 70 tipos de fito-cannabinoides, de los cuales los principales son los siguientes:

Tetrahidrocanabinol o THC: Principal compuesto psicoactivo del cannabis sativa. Dependiendo de la cepa puede encontrarse en grandes cantidades, alrededor del 30%, mientras que en otras no supera el 1%. A este compuesto se lo usa ampliamente para tratar:

- Epilepsia
- Dolor Neuropático
- Artritis



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

- Náuseas y vómitos causados por la quimioterapia
- Estimulación del apetito
- Entre otros. [9]

Cannabidiol o CBD: Es uno de los cannabinoides de mayor relevancia de la cannabis, dependiendo del tipo de cannabis su contenido varía. Se le atribuyen también distintos tipos de variedades farmacológicas, pero sin el efecto psicotrópico del THC, de hecho este componente reduce los efectos del THC. En particular a este compuestos se le atribuyen propiedades, analgésicas, antioxidantes y antiepilépticas. [10]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Capítulo II



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Capítulo II: Características físico-químicas de la *Cannabis sativa* L. (cáñamo industrial) y sus mecanismos de descontaminación de los suelos

2.1) Diferencias en la composición química de las variantes de cannabis

La planta de cannabis tiene alrededor de 500 productos químicos identificados en la planta, y alrededor de 100 de ellos se clasifican como fito-cannabinoides.

Si bien los compuestos de THC y CBD, son los compuestos más relevantes de la cannabis, no son biosintetizados por la planta, en lugar de esto produce ácido cannabidiolico y ácido tetrahidrocannabinólico, a través de una reacción de descarboxilación producida por la acción del calor y/o luz para obtener las respectivas especies descarboxiladas o (neutrales): CBD y THC.

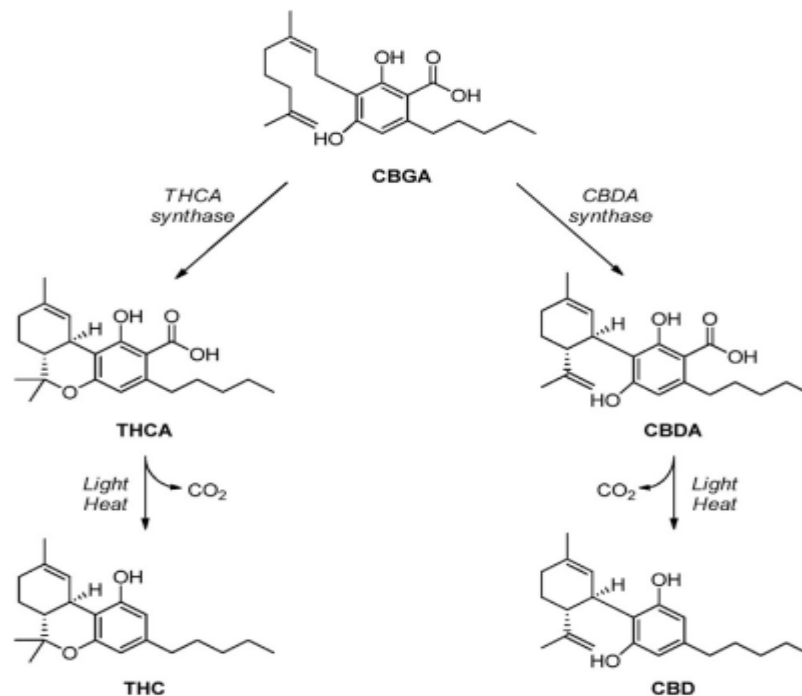


Figura 2-1: Síntesis de THC y CBD en la *cannabis sativa industrial*, 2018 y [9].



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Los tipos químicos de cannabinoides presentes en la planta se pueden dividir en tres grupos:

- I. Cannabinoides producidos por simbiosis de la planta (cannabinoides ácidos)
- II. Cannabinoides resultantes producto de la descarboxilación natural de los cannabinoides ácidos (cannabinoides neutros), bajo la influencia del almacenamiento de la luz y/o calor, por la pérdida del grupo inestable grupo carboxilo liberado en la forma de CO_2 .
- III. Cannabinoides resultante de la degradación, causada por distintas influencias; luz UV, oxidación o isomerización [11]

Ahora que se da por entendido cuáles son algunos de los componentes de la planta y que de entre todos estos compuestos los más importantes son el CBD y el THC, estos compuestos pueden encontrarse en distintas proporciones dependiendo de la cepa de cannabis.

La proporción entre estos dos compuestos es de gran relevancia, ya que el tipo de cepa de cannabis está ligada generalmente a estos compuestos.

Como la cannabis se encuentra en varias partes del mundo, se han desarrollado en gran cantidad de variantes, generalmente se opta por clasificarlas en tres grupos, basados en sus ratios de THC: CBD, los cuales se denominan quimiotipos (I, II, III) a diferencia de las variedades que son consideradas legales, las cuales comúnmente se encuentran en la categoría de quimio-tipo III los cuales presentan una marcada dominancia de contenido de CBD (cannabidiol) y bajos contenidos de THC (tetrahidrocanabiol), la cannabis comercial mayormente se clasifica en quimio-tipo I con altos contenidos de THC, y bajos contenidos de CBD. [12]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

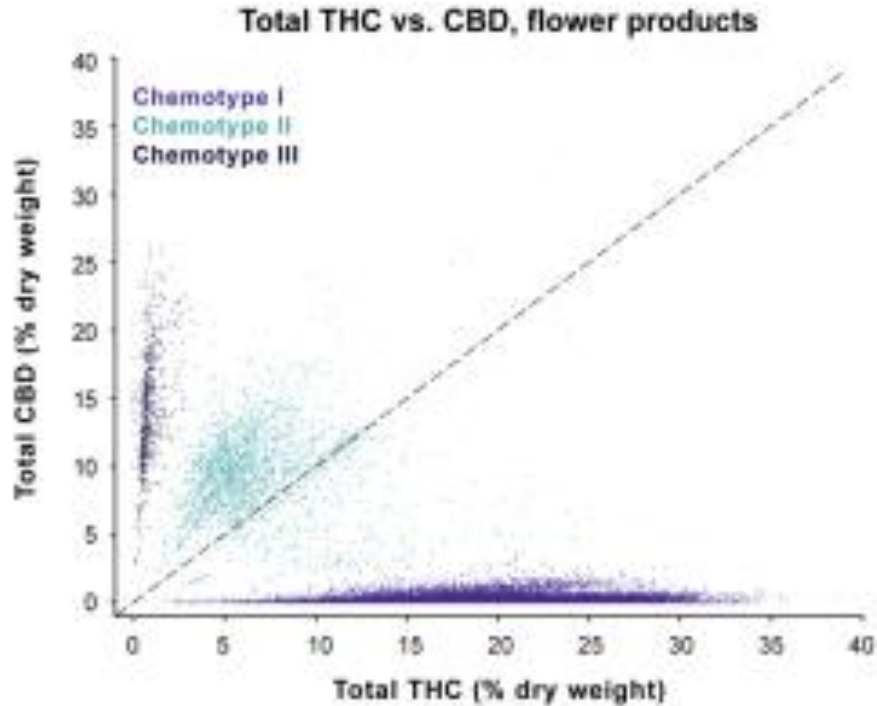


Figura 2-2: Diferencias en la concentración de THC y CBD en los distintos quimio-tipos, 2018 y [12]

La figura anterior muestra una clara diferencia en el contenido de cannabinoides; THC y CBD, dependiendo del quimio-tipo del cannabis, siendo posible identificar fácilmente las diferencias en las concentraciones de los fito-cannabinoides principales, observando 3 quimio-tipos, en los cuales se clasifican de manera general la cannabis.

Quimio-tipo	THC (%)	CBD (%)
I	2-37	0-2
II	2-13	1-16
III	0-3	3-26

La *Cannabis sativa* L. o cáñamo industrial, se ubica en el quimio-tipo III de las variedades de cannabis. Aunque si bien el contenido de CBD sirve para la clasificación de las variantes de la especie de la *Cannabis Sativa Industrial*, no se tienen antecedentes de que tenga alguna participación con los procesos de fito-remediación asociados a la planta.



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

2.2) Características de la planta de cáñamo industrial (*Cannabis sativa* L.)

Propiedades físicas: una vez germinada la semilla de cáñamo, crece a una velocidad aproximada de 1,5 a 2cm por día. Después de 40 días las plantas puede llegar a medir entre 2-4m de altura. Poseen un único tallo cilíndrico. Si se planta en bajas densidades, le crecen numerosas ramificaciones laterales y el tamaño de los tallos varia de 30-60 milímetros de diámetro. Por el contrario si se siembra densamente, los tallos no tienen ramificaciones laterales ni follaje, excepto en la parte superior, en este caso el tamaño de los tallos varía entre 6-20 milímetros de diámetro. Su temperatura optima de crecimiento varía entre 19-25°C, su punto de cultivo más bajo se encuentra entre los 1 y 2°C y es una planta sensible a heladas. La planta de cáñamo cuenta con un sistema de raíces, un sistema de raíces primarias profundas, pivotantes y grueso sobre todo en el tallo, llegando a medir hasta 2 metros de profundidad. Y un sistema de raíces secundario que puede crecer de 60-80 cm por debajo de la superficie del suelo. [13]

Plantas híper-acumuladoras: Se le denomina plantas híper-acumuladoras, a aquellas plantas que poseen capacidades fisiológicas, que les otorgan capacidades por sobre duras condiciones del suelo, desarrollarse en ambientes empobrecidos, penetrar en suelo endurecido, entre otros. Estas hierbas son generalmente anuales, y además poseen la capacidad de bio-acumular una cantidad mucho mayor que el promedio de metales pesados dentro de ellas y transformarlas en sustancias inocuas. El proceso por el cual estas plantas depuran los suelos contaminados es la fito-remediación, se trata de un proceso que no genera consecuencias adversas al medio ambiente, además de ser una tecnología costo-eficiente. Sin embargo, una de las dificultades que presentan las plantas híper-acumuladoras, es que la biomasa producida por estas plantas no presenta ningún valor económico, es decir, no presentan ninguna ganancia monetaria, solo se les da uso para la restauración de los suelos contaminados Una planta híper-acumuladora ideal es aquella que produce una alta cantidad de biomasa útil, posee una buena tolerancia a los metales pesados, además de una buena capacidad de absorción y bio-acumulación de estos. El cáñamo posee varios de estos factores, sumado su corto periodo de crecimiento (180 días),



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

sumado al hecho de que esta planta posee capacidades muy altas de absorber y acumular metales pesados como: níquel, cromo, cadmio, zinc, entre otros. [14]

2.3) Fito-remediación y sus conceptos asociados

La *C. Sativa*, o cáñamo industrial, debido a que tiene la capacidad de hiperacumular residuos industriales, es bien sabido que el cáñamo convierte terrenos desolados e infértiles, en tierras descontaminadas y cultivables, especialmente de la contaminación de metales como: plomo, cobre, zinc, cadmio[16]. Aunque si bien, puede afectar de manera negativa el producto consumible, ósea las semillas de cáñamo, la fibra no se ve afectada por la captación de metal. Con la excepción de las raíces, las concentraciones más altas de contaminantes se encuentran en las hojas, y las menores en las semillas. El mecanismo a través del cual la planta realiza la descontaminación es conocido como la fito-remediación.

Fito-remediación: se basa en el uso de la vegetación para el tratamiento de la contaminación ya sea del agua, tierra y aire. Combina las disciplinas de fisiología vegetal, microbiología y química del suelo, el objetivo de la fito-remediación es la eliminación de los metales pesados.

Existen diversos tipos de mecanismos asociados a la **fito-remediación, fito-extracción, fito-volatilización, rizo-filtración y fito-degradación.**

- Fito-extracción: Es un mecanismo a través del cual las raíces de las plantas absorben el agua contaminada, transportándola a varias partes de la planta. El costo que involucra la fito-extracción en comparación con una técnica convencional es diez veces menor, por lo cual resulta bastante rentable. El desarrollo de esta técnica proviene del descubrimiento de una variedad de malezas, a menudo endémica, en suelos mineralizados que naturalmente concentran altas cantidades de metales pesados esenciales y no esenciales en el mismo contexto. Un ejemplo; la *Rhamnus Globosa* presenta una hiper-acumulación de cadmio (Cd). [15]



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

- **Rizo-filtración:** es un tratamiento de aguas tanto superficiales como subterráneas que contienen significativas concentraciones de metales pesados. Puede ser utilizado para los siguientes metales; Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Níquel (Ni) y Cromo (Cr). Es una técnica de fito-remediación diseñada para eliminar los metales pesados en los ambientes acuáticos, estos contaminantes se distribuyen por la planta, pero quedan principalmente retenidos en las raíces. [15]
- **Fito-volatilización:** en esta técnica los metales pesados son absorbidos por las raíces y posteriormente son liberados a través del proceso de transpiración de la planta. Este proceso solo funciona cuando los metales son de naturaleza volátil. A sido establecido que este proceso funciona tanto para metales, como para compuestos contaminantes orgánicos. [15]
- **Fito-degradación:** también conocida como fito-transformación, es un proceso en el cual se produce la descomposición de los contaminantes productos de las acciones metabólicas dentro de la planta o en el entorno cercano a la planta. A través de asociaciones simbióticas de la raíz de la planta. Un proceso conocido como ex-planta, ocurren cuando los compuestos orgánicos se hidrolizan para transformarse en sustancias que la planta sea capaz de absorber, algunos contaminantes pueden ser absorbidos por la planta y luego ser descompuestos por las enzimas vegetales. [15]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

2.4) Uso de las plantas híper-acumuladoras

El descubrimiento del potencial fito-remediador, de la planta de cáñamo se debió a que en 1998, en el instituto de Cultivos de Bast de Ucrania, se comenzó a plantar cáñamo con el único fin de extraer y eliminar los contaminantes cerca del sitio de Chernobyl.

Ha habido gran cantidad de situaciones, en las que el cáñamo ha demostrado, junto con otros tipos de plantas, como el maíz, trigo o el girasol, poseen una gran capacidad para la extracción, acumulación y/o eliminación de las sustancias contaminantes, que son de carácter toxico y casi mortales para el ser humano. [16]

En la siguiente tabla se muestra la capacidad del girasol de acumular Cd (cadmio), en dos tipos de ambientes diferentes:

Ambiente	Exterior			Interior		
	Hoja	Raíz	Tallo	Hoja	Raíz	Tallo
Muestras	3	3	3	3	3	3
Media	0.21	0.88	0.29	0.03	1.80	0.27
D.E.	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

Figura 2-3: Concentración de cadmio (Cd en mg/kg) en plantas de girasol en suelos provenientes del centro poblado La Rinconada en la región Puno, 2015, [17]

2.5) Ejemplos del empleo de la *Cannabis sativa industrial L.* para la restauración de suelos contaminados

Agricultores de los campos de Taranto, región de Italia Apulia: en 2008 se detectó dioxina en los animales, el cual es un compuesto altamente toxico. Puede afectar gravemente la salud humana, con síntomas que van desde problemas con el sistema reproductor, hasta pudiendo afectar el sistema inmunitario y causar cáncer. Ante el peligro que significa la presencia de la dioxina en los animales, los granjeros fueron forzados a sacrificarlos, por orden del gobierno.

La razón de la contaminación, se debe a una industria de aceros, fundada en 1905, en las cercanías de la zona de Taranto, produciendo un gran impacto medioambiental, llegando al punto de contaminar los suelos, debido al desecho irresponsable de residuos.



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

En respuesta a la creciente contaminación, los agricultores en lugar de desplazarse, usaron otros métodos para solucionar esta problemática. Comenzaron a llenar extensas áreas con cañamo, comenzando así con el proceso de fito-remediación. El cultivo de cañamo eventualmente, absorbió, transformó y/o eliminó la dioxina del suelo. Evitando que la gente tuviera que desplazarse de su hogar. [13]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Capítulo III



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

Capítulo III: Estudios de la cannabis, en suelos contaminados y/o desgastados

3.1) En la figura 3-1 se observa la capacidad de acumulación del cáñamo en las hojas y raíces, para distintos tipos de metales pesados

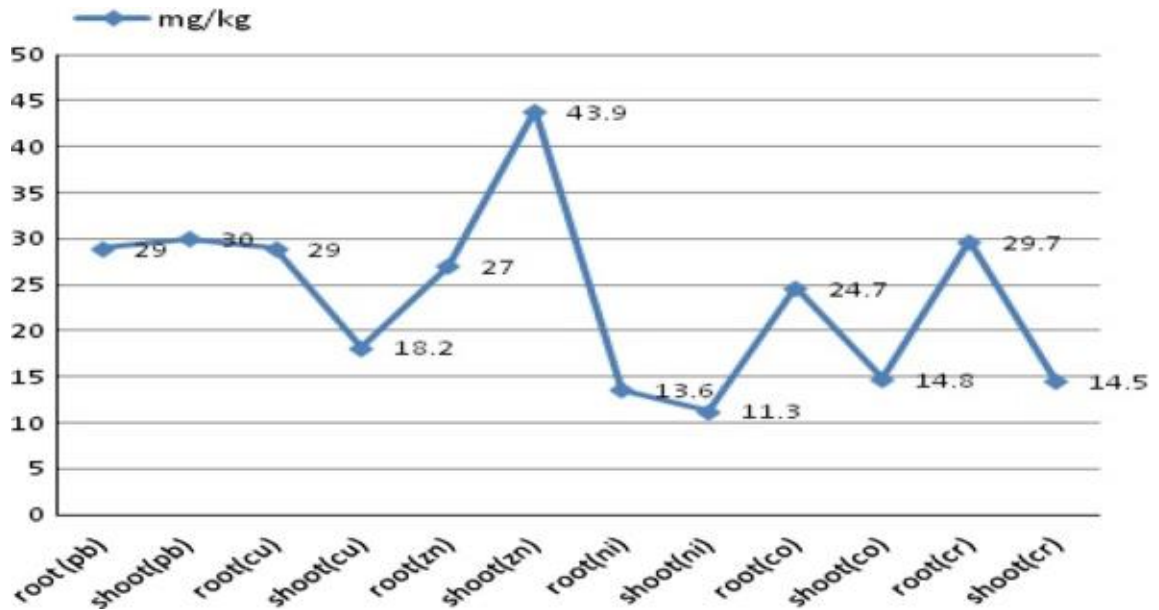


Figura 3-1: Representación gráfica de la hiper-acumulación de metales pesados tóxicos de la *cannabis sativa*, 2018 y [15].

La figura 3-1 muestra la hiper-acumulación de *C. sativa L.*, el lugar en específico donde se hizo el estudio no está informado, por otro lado se sabe que se realizó en diversos tipos de suelo que están contaminados con diferentes tipos de metales pesados. Se puede observar que la mayor cantidad de metal acumulado en las hojas, es el zinc (Zn), mientras que por otra parte el metal que menos acumulo la planta fue el níquel (Ni), tanto en las raíces como en los brotes. Es importante mencionar que la capacidad de hiper-acumulación de distintos metales, de la *cannabis sativa*, varía dependiendo de la composición del suelo y de la naturaleza de la planta. Así, por ejemplo, la variable de *cannabis Zenit*, presenta una mayor capacidad de acumular hierro, en comparación con otras variedades de cáñamo. [15]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

3.2) Estudio del cultivo de tabaco junto con la rotación de cáñamo

La rotación del tabaco constituye una práctica muy antigua, la cual se ha mantenido, por los beneficios que producen, por lo general el primer cultivo que se realiza en un suelo tiene buenos resultados, sin embargo, cosechas sucesivas disminuyen su fertilidad, al mismo tiempo que alteran y modifican sus propiedades.

La planta de tabaco consume muchos nutrientes, por lo que la rotación de su cultivo es fundamental para que el suelo se recupere. El rendimiento neto potencial de las variedades de este cultivo, es superior a 2300 kg/ha, pero debido a distintos factores, se obtienen, rendimientos promedios menores a 1500 kg/ha.

Para evitar que ocurran estos desgastes en el suelo, se debe alternar el tabaco con otras plantas en la misma superficie

Las plantas utilizadas en la rotación no pueden ser de cualquier tipo: deben ser de familias botánicas distintas y tener diferentes necesidades nutricionales que las del tabaco. Las plantas que se utilizan en la rotación del tabaco, son el maíz, el arroz, la judía y el cacahuete, pero la que más beneficios ofrece es el cáñamo industrial. Estos beneficios son:

- Protección del suelo en los periodos de barbecho
- Moviliza y recicla los nutrientes
- Mejora la estructura del suelo, rompen las capas compactadas y las capas duras.
- Control de malezas y plagas

Otro punto importante, es que al momento de plantar realizar la plantación de tabaco, se deben eliminar herbicidas y otros productos que puedan quedar del cultivo anterior. Esto no sucede con el cáñamo industrial, ya que su rápido crecimiento y desarrollo foliar, combinado con una siembra en alta densidad, compite de manera más eficiente por el sol, como consecuencia, las malas hierbas no tienen ni espacio, ni sol, evitando así su aparición.

Un estudio realizado por la Estación Experimental del Tabaco Sancti Spiritus (Cuba), promueve la práctica de la rotación de cultivos. El estudio consistió en dividir el terreno en una sección de monocultivo y otra de rotación de cultivos. Se concluyó, que aquella sección en donde se realizaron monocultivos (tabaco-barbecho), no



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

reporto mayor rendimiento del suelo, ni tampoco mejorar calidad de la planta. Por otro lado en la sección de rotación de cultivos, entre las plantas que se usaron se incluyen el cáñamo, donde sí se reportaron mejoras en la calidad del suelo y el cultivo, con plantación de tabaco cada cuatro a cinco años. [13]

Otro punto a favor para la rotación de tabaco con cáñamo, es que el lapsus de tiempo recomendado entre las plantaciones de tabaco, son de tres años, mientras más tiempo mejor, sin embargo, con el cáñamo industrial, este lapso de tiempo se reduce a meses, producto del rápido crecimiento del cáñamo ya que es una planta anual. [13]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

3.3) Análisis de la capacidad del cáñamo para acumular metales pesados.

Muestras de cáñamo hojas de cáñamo plantados cerca de las fábricas textiles de Kohi Noor, Rawalpindi, Pakistán

Se realiza un análisis de la planta de cáñamo que se plantaron en los alrededores de las fábricas textiles de Kohi Noor, con el fin de analizar los metales pesados que habían absorbido las plantas de cáñamo industrial y en qué proporción se encontraban en distintas partes de la planta. Además también se investigó como la planta reaccionaba a diferentes concentraciones de distintos tipos de metales pesados. Debido a que el genoma de la planta de cáñamo no está secuenciado y que los genes responsables de la tolerancia al estrés de los metales pesados son desconocidos, se realizó un análisis y caracterización a los genes GSR (*glutación-disulfuro reductasa*) y PLD α (fosfolipasa *D- \alpha*) ya que estos pueden permitir deducir las vías moleculares involucradas en la acumulación y tolerancia de metales pesados en la planta de cáñamo. Los metales descargados por la fábrica, son; Pb, Zn, Cu, Co, Ni, Cr y Cd. Se cosecharon las hojas del cáñamo industrial, el tipo de variante de cannabis no está especificado, se depositaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta su posterior procesamiento. Para la determinación de los metales pesados, se trituraron las hojas en un mortero ágata y se mantuvieron en bolsas de polietileno. Paralelamente 2 g de suelo preparado, se digirieron en 15 ml de ácido nítrico, 20ml de ácido perclórico y se calentaron por 3h. Las hojas por su parte, las muestras de hojas secas en polvo, de digirieron en ácido perclórico 60%, ácido nítrico concentrado y ácido sulfúrico. Las muestras digeridas se analizaron, para la detección de metales pesados (As, Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn), utilizando espectrometría de absorción atómica en el Instituto de Tecnología de la Información de COMSATS, Abbtobad, Pakistán.

Los resultados arrojan, una mayor acumulación de Cu (1530 mg/kg), Cd (151 mg/kg) y Ni (123 mg/kg) los demás resultaron despreciable, lo que sugiere que el cáñamo es considerablemente más efectivo para los suelos contaminados con Cu, Cd y Ni.

Varios estudios han demostrado que la capacidad de acumular metales pesados de la planta de cáñamo aumenta con la concentración de metales pesados en la solución/suelo. Por otra parte la distribución de los metales pesados en las partes de la



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

planta de cáñamo es diferente. Se ha demostrado que a una mayor concentración de metales pesados en los suelos aumenta la capacidad de transferencia de las raíces a las hojas y brotes de cáñamo. [16]

Paralelamente se estudiaron la acumulación y tolerancia al Cd, de ocho cultivos energéticos, de los cuales el cáñamo arrojó los mejores resultados. También se hicieron estudios enfocados al crecimiento y capacidad fotosintética del cáñamo en distintas concentraciones de cadmio, observándose que la planta podía mantener el crecimiento y la tasa fotosintética, pese a estar sometido al estrés constante del cadmio. Así mismo se observó que el cáñamo posee una fuerte resistencia al Zn, mostrando pequeñas inhibición en el crecimiento de la planta y en sus actividades fotosintéticas. En otro estudio se cultivó cáñamo en dos suelos distintos, contaminados 27, 74, 126 (S1) y 82, 115, 139 (S2) microgramos/g de Cd, Ni, Cr respectivamente. Los resultados arrojaron que el contenido medio de Cd en los brotes fue de 14 y 66 para el S1 y S2, respectivamente, mientras que por otra parte, la captación de Ni y Cr fue limitada. [14]

3.3.1) Identificación de los genes *GSR* y *PLD α* , responsables de las respuestas adaptativas de las plantas híper-acumuladoras

Para la identificación de los genes *GSR* y *PLD α* , se realizó previamente una RT-PCR, la cual es una técnica de laboratorio usada comúnmente en biología molecular, con el objetivo de generar una gran cantidad de copias de ADN, en un proceso denominado “amplificación”. [14]

RT-PCR: para la realización de la RT-PCR ADNc a partir de 2 μ g de muestras de ARN tratadas con DNaseI, utilizando un cebador de oligo y una enzima de transcriptasa inversa. Las reacciones de la RT se incubaron a 37°C durante 60 min y posteriormente fueron calentadas a 94°C durante 10 min. Los fragmentos de *GSR* y *PLD α* , se amplificaron por PCR de 50 a 100 ng de ADNc equivalente, utilizando cebadores degenerados. El volumen total utilizado para la PCR fue de 20 μ g, los cuales contenían 50ng de ADNc, 5pmol de cada par de cebadores, 10 μ g de mezcla maestra 2X (ADN polimerasa Taq, dNTP, MgCl₂ y tampones de reacción). Para la amplificación de los genes de *GSR* y *PLD α* , se utilizó el termociclador “Master cycler gradient”. La mezcla se sometió al siguiente programa de amplificación:



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

- Desnaturalización preliminar (94°C/5min)
- 35 ciclos de amplificación (desnaturalización; 94°C/30s)
- Hibridación (60°C/30s)
- Elongación (72°C/0,45s)
- Alargamiento final (72°C/10min)

Características del gen GSR: los datos publicados mostraron que el gen GSR desempeña un papel regulador para influir en la expresión de muchos genes importantes en las respuestas de las plantas al estrés tanto biótico como abiótico. Según un estudio reciente, los metales pesados como Zn, Cu y Cd principalmente aumentaron la actividad del GSR involucrada en el ciclo ascorbato-glutation en el girasol. En otro estudio la actividad del GSR aumento de un 111 a un 200%, de siete a catorce días, respectivamente, en las raíces de trigo tratadas con Cd. Así como también el GSR mostro una mayor actividad bajo la toxicidad del Pb y el NaCl. Por lo tanto, la regularización al alza de GSR, es producido como un mecanismo de defensa contra las tensiones de Cd, Cu, Pb y Zn. En este estudio, el producto amplificado de 50 ng de ADNc mostro una mayor expresión que podría ser debido a la acumulación de metales pesados en las hojas de la planta de cañamo.

Características del gen PLD α : El gen PLD α se amplifico a 50ng de ADNc, observándose una expresión más alta, la cual podría deberse al estrés causado por los metales pesados. Otros estudios han demostrado que el gen PLD α está involucrado en las respuestas ABA, las cuales desempeñan un rol importante en las numerosas respuestas de estrés de las plantas como por ejemplo: el frio, la sequía y la salinidad. En otro estudio un gen putativo de PLD de trigo mostro una expresión genética mejorada y, por lo tanto, aumento la actividad del PLD bajo el estrés del cobre. Además de aumentar la actividad del gen PLD α en plantas bajo estrés abiótico.



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

3.4) Resumen de los estudios anteriormente abarcados

3.4.1) En el primer estudio mencionado, no se especifica el lugar exacto en donde se realiza el estudio, el cual consta de diferentes tipos de suelos, los cuales están contaminados con distintos tipos de metales pesados (Pb, Cu, Ni, Co, Zn, Cr). El cáñamo se utilizó en el suelo como un medio para extraer y eliminar estos metales pesados. No se reportó que el cultivo de cáñamo allá sufrido algún percance durante la realización del estudio. Los resultados mostrados por la planta de cáñamo fueron positivos, mostrando una alta capacidad de acumulación de metales pesados, sobre todo el zinc (Zn), por otra parte el metal que fue absorbido en menor medida por la planta fue el Níquel (Ni).

3.4.2) Segundo estudio fue realizado por Estación Experimental del Tabaco Sancti Spiritus (Cuba), en donde el suelo se encontraba desgastado por las plantaciones de tabaco realizadas por las empresas, este tipo de cultivo consume gran cantidad de nutrientes del suelo. En este caso el cáñamo se utiliza con el fin de realizar una rotación de cultivos junto con el tabaco, ya que este posee una gran variedad de propiedades para el descanso y restauración de los nutrientes del suelo. No se observó que el cáñamo sufriera algún problema durante la realización de este estudio. Los resultados fueron muy satisfactorios, el cáñamo tiene una gran sinergia con el tabaco, no solo restituyendo el suelo en que fue plantado el tabaco, sino que además no permitió que la maleza se propagase por la zona agrícola y redujo considerablemente el lapso de tiempo entre los cultivos de tabaco (normalmente tres años son recomendados como mínimo, con el cáñamo esto se reduce a meses).



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

3.4.3) El tercer estudio fue realizado en Kohi Noor, Rawapindi, Pakistan, donde una fábrica de textiles, descargaba los siguientes metales pesados Pb, Zn, Cu, Co, Ni, Cr y Cd. El tipo de suelo se hallaba contaminado por los elementos antes mencionados. En este caso el cáñamo se usó para eliminar estos metales pesados, y posterior mente sus hojas fueron conservadas y transportadas al Instituto de Tecnología de la Información de COMSATS, Abbtobad, Pakistan, donde se le realizaron varios estudios. En este se reportó que el cáñamo sufrió unos problemas menores en su tasa de crecimiento y en su tasa fotosintética, debido al estrés de los distintos metales ahí presentes en los suelos. Los resultados fueron bastante positivos, en donde se demostró que el cáñamo poseía una gran capacidad para absorber metales pesados, en especial Cu y Cd, posee una alta resistencia al Zn y se observó que a mayor cantidad de metales pesados presentes en el suelo, mayor se vuelve la capacidad de acumular dichos metales en el cáñamo. Por otro lado los genes GSR y PLD α , mostraron estar involucrados en las respuestas frente al estrés causado por la presencia de metales pesados en el suelo, donde se plantaron plantas híper-acumuladoras. Sin embargo, para confirmar su rol en estas respuestas son necesarios mas estudios



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

3.4.4) Tabla comparativa de los estudios mencionados

Estudios	Estudio 1	Estudio 2	Estudio 3
Contexto/ Lugar	No está especificado.	Estación Experimental del Tabaco Sancti Spiritus (Cuba).	Kohi Noor, Rawapindi, Pakistan, cerca de una fábrica de textiles.
Tipo de suelo	Contaminado con metales pesados	El suelo se hallaba desgastados por los cultivos de tabaco, los cuales extraen gran cantidad de nutrientes del suelo	Suelos contaminados con los metales pesados desechados por la fabrica
¿Cómo se utiliza la cannabis?	Se utiliza la cannabis para descontaminar los suelos y realizar un estudio de los distintos tipos de metales pesados y su acumulación en distintas partes de la planta (raíces, hojas)	La cannabis se utiliza para la restauración de las propiedades del suelo, para devolverle la productividad original.	La cannabis se utiliza con el fin de remover los metales pesados de los suelo aledaños a la fábrica y someter las hojas a una serie de estudios para observar sus propiedades fito-remediadoras frente a distintos escenarios de contaminación. Se realizaron análisis, con muestras de hojas de cannabis, con el fin de averiguar la participación de los genes GSR y PLD α , en sus respuestas frente al estrés, de la contaminación del suelo con metales pesados.
Problemas/ Obstáculos al utilizar cannabis	No se observó ningún problema u	No se observó ningún problema u	Se presentó una pequeña disminución en la



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

	obstáculo durante el estudio.	obstáculo durante el estudio.	tasa de crecimiento y fotosintética de la cannabis en suelos contaminados con Zn
Resultados	Los resultados muestran que la cannabis posee una amplia capacidad para acumular metales pesados, tanto en las raíces como en las hojas, especialmente de Zn, en las hojas.	Los resultados, arrojaron que la planta de cannabis es ideal para la rotación de cultivos junto con el cáñamo, restaurando los nutrientes que fueron absorbidos por los cultivos de tabaco, además de actuar como un herbicida y disminuir enormemente el lapso de tiempo entre los cultivos de tabaco	Se puede observar en los resultados que la cannabis posee un gran capacidad de acumulación, sobre de los metales pesados de Cu, Cd y Ni, además de que a mayor concentración de metales pesados en los suelos, mas aumenta la capacidad de acumular dichos metales en la planta. Los genes mostraron participación en las respuestas de estrés de la planta, pero son necesarios más estudios para confirmar dicha participación.

Tabla comparativa elaboración propia

Tabla 3-2: Estudios de la capacidad de la *Cannabis sativa* L. para remover metales pesados



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Conclusiones

Los estudios realizados en torno al cáñamo, han demostrado que esta planta posee un potencial de fito-remediación muy alto, para una gran variedad de metales pesados, además de poder tolerar sin mayores dificultades cantidades que excedan considerablemente las cantidades normales de estos mismos elementos, afectando solo en pequeñas proporciones a su capacidad de crecimiento y capacidades fotosintéticas. Además su capacidad de captar y acumular metales pesados es proporcional a la cantidad que estos se encuentren en el suelo, es decir, a mayor concentración de metales pesados en el suelo, mayor será la capacidad de absorber y eliminarlos del suelo.

El cáñamo es especialmente efectivo descontaminando suelos que estén afectados por los metales pesados de Cu, Cd y Zn. Los principales lugares en donde la planta de cáñamo acumula dichos metales son en las raíces y en las hojas. La planta de cáñamo posee grandes capacidades para adaptarse a entornos contaminados y estériles, limpiando la tierra, y entregando bío-masa útil para posteriores procesos.

Los genes GSR y PLD α , han demostrado estar involucrados de alguna manera con las respuestas de las plantas híper-acumuladoras (entre las cuales se encuentra el cáñamo industrial), sean bióticas o abióticas, presentando una actividad superior, cuando estas plantas se encuentran en ambientes de estrés causados por la elevada presencia de metales pesados en el suelo. Sin embargo, todavía son necesarios más estudios para confirmar su rol en las condiciones de estrés causadas por los metales pesados.

Por otra parte la planta de cáñamo demostró ser muy efectiva a la hora de rotar cultivos en el caso del tabaco, ya que esta no absorbe los mismos nutrientes de los cuales el tabaco debe en su próxima cosecha, por otro lado ayuda al suelo a restaurarse debido a sus bajas demandas nutricionales, evita que la hierbas indeseables crezcan y se propaguen, ya que, evita que estén reciban sol, además de no entregarles espacio, cuando se siembran en densidad. Posee la propiedad de ablandar suelos compactados y duros, además de proteger los suelos en los periodos del barbecho.



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Bibliografía

- 1.- HempMedsMexico. Breve historia del cáñamo. [En línea]. NEWS.UNCATEGORIZED. <<https://hempmeds.mx/breve-historia-del-canamo/>>. [Consulta: 6 de diciembre de 2018]
- 2.- David Hurtado. CÁÑAMO, LA PLANTA TEXTIL MÁS ANTIGUA DEL MUNDO. [En línea]. Cannabis Magazine. <<http://www.cannabismagazine.es/digital/canamo-la-planta-textil-mas-antigua-del-mundo>>. [Consulta: 6 de diciembre de 2018]
- 3.-Jesús Hernández, E. del Mar Tena. Nuestro Medio Ambiente. [En línea]. Editor: Centro Cultural Poveda. <http://209.177.156.169/libreria_cm/archivos/pdf_697.pdf>. [Consulta: 7 de diciembre del 2018].
- 4.-Módulo de sensibilización ambiental, 1. Introducción al concepto de medio ambiente [en línea]. Páginas 10-15. <http://www.cma.gva.es/areas/educacion/educacion_ambiental/educ/sensibilizacion/pdf/MANUALDE_1.PDF>. [Consulta: 7 de diciembre del 2018].
- 5.-E. Galán Huertos, A. Romero Baena. Contaminación de suelos por metales pesados [en línea]. <http://www.ehu.eus/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf> [consulta: 6 de diciembre de 2018]
- 6.-Revista: Ingeniería, Investigación, Desarrollo [en línea]. Vol. 16 N°2. Sogamoso-Boyacá. <<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-ContaminacionPorMetalesPesados-6096110.pdf>>. [Consulta: 7 diciembre de 2018]. ISSN 2422-4324.
- 7.- C. R. Fernández Cabrera, A. López Castañeda, D. J. Palma-López, E. Shirma Torres, J. Zavala-Cruz. Degradación y Conservación de los Suelos en la Cuenca del rio Grijalva, Tabasco. [En línea]. <



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

<https://www.colpos.mx/tabasco/2014/DEGRADACION%20Y%20CONSERVACION%20DE%20SUELOS.pdf>>. [Consulta: 9 de diciembre 2018]

8.- Fundación-Canna. ¿Qué son los cannabinoides? ¿Dónde se encuentran? [En línea]. <<https://www.fundacion-canna.es/cannabinoides>>. [Consulta: 8 de diciembre del 2018]

9.- D. Braghiroli, G. Canazza, C. Citti, M. Ángela Vandelli. Pharmaceutical and biomedical analysis of cannabinoids: A critical Review. [Paper]. Editorial: Elsevier. Pag. 1-15.

10.- M. Inojosa Becerra, I. Marín Gutiérrez. El descubrimiento de cannabidiol, el principal componente del cannabis. [En línea]. <https://www.researchgate.net/publication/317237790_El_descubrimiento_del_cannabidiol_el_principal_componente_del_cannabis>. [Consulta: 8 de diciembre de 2018]

11.- M. González, R. Pereira Limberger, R. Scorsatto Ortiz, L. Steffens, B. Tassi Borille. Cannabis sativa: A systematic review of plant analysis. [Paper]. <bruhhtb@gmail.com>. [Consulta: 9 de diciembre de 2018].

12.- Nick Jikomes & Michael Zoorob. The Cannabinoid Content of Legal Cannabis in Washington State Varies Systematically Across Testing Facilities and Popular Consumer Products. [Paper]. <www.nature.com/scientificreports>. [Consulta: 8 diciembre de 2018]

13.- J. Pérez Iturriaga. PROYECTO ECOLÓGICO DE DEPURACIÓN DE TIERRAS EN EL CULTIVO DE TABACO MEDIANTE LA ROTACIÓN CON CÁÑAMO INDUSTRIAL. [En línea]. <<http://www.jydgenetiks.com/wp-content/uploads/2017/03/DOSSIER-CAN%CC%83AMO-JYDGENETIKS.pdf>>. [Consulta: 10 de diciembre de 2018]

14.-H. Fischer, J. Kobert, P. Linger, J. Mußsig. Industrial hemp (Cannabis sativa L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential. [Paper]. <www.ElSevier.com/locate/indcrop>. [Consulta: 10 de diciembre 2018]



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

15.- Madhuri Girdhar, Anupam Kumar, Anand Mohan, Neeta Raj Sharma, Hasibur Rehman. Comparative assessment for hyperaccumulatory and phytoremediation capability of three wild weeds. [Paper]. <Springerlink.com>. [Consulta: 10 de diciembre de 2018]

16.- Rafiq Ahmad, Sabaz Ali Khan, Saeed Ahmad Asad, Muhammad Bilal, Mohammad Maroof Shah, Muhammad Shahzad, Samina Tanvir Malik, Zara Tehsin. Phytoremediation potential of hemp (*Cannabis sativa* L.): Identification and characterization of heavy metals responsive genes. [En línea]. <
https://www.researchgate.net/publication/281651509_Phytoremediation_Potential_of_Hemp_Cannabis_sativa_L_Identification_and_Characterization_of_Heavy_Metals_Responsive_Genes>. [Consulta: 10 de diciembre de 2018]

17.- María E. Suaña Quispe. CAPACIDAD DEL GIRASOL (*Helianthus annuus* L.) PARA ABSORBER CADMIO DE SUELOS CONTAMINADOS EN AMBIENTE CONTROLADO, PUNO. [En línea].
<http://revistaepgunapuno.org/index.php/investigaciones/article/viewFile/313/129>.
[Consulta: 12 de enero de 2019]



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA