



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

UNIDAD REGIONAL UNIVERSITARIA DE ZONAS ÁRIDAS
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**FITORREMEDIACIÓN DE PLOMO (Pb) Y ARSÉNICO (As)
CON HIGUERILLA (*Ricinus communis* L.) EN
ASOCIACIÓN CON MICORRIZAS**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES
Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS

PRESENTA:

NANCY YADIRA MEZA TREVIÑO



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

Bermejillo, Durango. Junio de 2014.



**“Fitorremediación de Plomo (Pb) y Arsénico (As) con higuera
(*Ricinus communis* L.) en asociación con micorrizas”**

Tesis realizada por **Nancy Yadira Meza Treviño** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

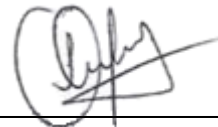
**MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE EN
ZONAS ÁRIDAS**

DIRECTOR:



Dr. Ricardo Trejo Calzada

CO-DIRECTOR:



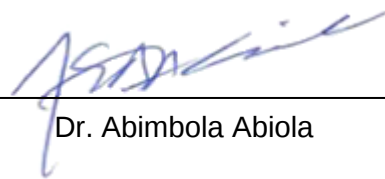
Dr. José Antonio Cueto Wong

ASESOR:



Dr. Ricardo David Valdez Cepeda

ASESOR:



Dr. Abimbola Abiola

DATOS BIOGRÁFICOS

Formación Académica

Técnico en Informática, egresada en 2001 del Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 1; Bióloga egresada en 2005 de la Escuela Superior de Biología de la Universidad Juárez del Estado de Durango (ESB – UJED).

Cursos, Diplomados y Participaciones

Participación en las Jornadas Académico-Culturales 2003 “Estudios Actuales en Ecología” de la Escuela Superior de Biología-UJED. (2003); Participación como ponente con el tema “Filósfera de vegetación en dunas e Interdunas de Viesca Coahuila México” durante las Jornadas Académico-Culturales de la Escuela Superior de Biología- UJED. (2005); Participación en el Curso-Taller “Elaboración de talleres de Educación Ambiental” en la Ciudad de Parras Coahuila (2005); Participación en el Curso taller y Prácticas profesionales de Acuacultura, en el Centro Acuícola “La Rosa” en la ciudad de Saltillo Coahuila. (2005); Participación en el Curso-Teórico-Práctico: Análisis de la expresión genética: Técnicas básicas de DNA recombinante, RT-PCR convencional y RT-PCR semicuantitativa. Organizado por el departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Monterrey y la compañía UNIPARTS en Monterrey, Nuevo León (2008); Acreditación del diplomado: Competencias Académicas para el Nuevo Modelo Educativo 2° Edición, impartido al personal académico de la Universidad Juárez del Estado de Durango de Diciembre de 2009 a Octubre de 2010; Asistente al 1° Congreso Internacional Tutorías Orientación y Docencia (2011) en la Ciudad de Durango, Durango; Asistencia al curso teórico: Aplicaciones y Manejo de la Biología Molecular en la Biología, realizado del 23 al 26 de agosto de 2011 en la Escuela Superior de Biología, con una duración de 16 horas; Estudios de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas los realice en la Universidad Autónoma de Chapingo en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas en Bermejillo, Durango. Estancia de estudios a la Cd. de San Antonio Texas, asistiendo a un curso intensivo de inglés; Estancia de participación en proyectos en OCCI del Olds College en Olds, Alberta, Canadá.

DEDICATORIAS

*Agradezco infinitamente a **Dios** por guiar mi camino en todo momento, por todas sus bendiciones y porque la fe en él es el soporte de mi vida.*

***A mi esposo Jesús Josafath Quezada Rivera.** Gracias por compartir tu vida a mi lado, por caminar de la mano juntos para cumplir nuestros sueños y metas, por ser la persona más especial en mi vida. Gracias por todo tu apoyo y por todo tu amor. Dios nos permite dar este paso juntos y confié en él que será uno de muchos más. Te Amo.*

***A mis Padres, Ma. de la Luz Treviño García y José Guadalupe Meza López** con mi mayor gratitud por los esfuerzos realizados para que yo lograra prepararme profesionalmente siendo para mí la mejor herencia, por todo el apoyo y comprensión que siempre me han brindado por ser los mejores padres y a los que siempre he admirado. Gracias por todo su amor, por guiar mi camino y por estar junto a mí en todo momento. Los amo con todo mi corazón.*

***A mi hermana** Lupita, porque es la única que Dios me concedió tener y es la mejor, porque has estado conmigo en los momentos más felices y en los más difíciles, porque te admiro por esa fuerza y el gran corazón que tienes.*

***A mis suegros Jesús Quezada y Carmen Rivera,** Por todo su apoyo, cariño y por siempre estar al pendiente de nosotros.*

***A la familia,** a todos y cada uno de los integrantes de nuestras familias por todo su apoyo y cariño.*

A todos mis maestros que son una parte muy importante en nuestra formación profesional.

A mis compañeros, amigos y a todos los que de una u otra forma contribuyeron y estuvieron siempre al pendiente brindándonos su apoyo y cariño.

AGRADECIMIENTOS

*A mi Director de Tesis **Dr. Ricardo Trejo Calzada**; Le agradezco profundamente todo el apoyo incondicional en todo sentido, gracias por sus consejos y por ser una persona honesta y estar al pendiente siempre de sus estudiantes y su formación. Reciba mi admiración, cariño, respeto y agradecimiento sincero.*

*Al **Dr. Ricardo Valdez Cepeda**, por el apoyo que nos brindó, por sus consejos y por compartir con nosotros sus conocimientos y su experiencia profesional. Reciba mi agradecimiento y respeto.*

*Al **Dr. José Antonio Cueto Wong**, por su apoyo y facilidades otorgadas para la realización de los análisis de determinación de metales en el laboratorio de Agua-Suelo-Planta del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua, Suelo, Planta, Atmósfera (CENID RASPA).*

*To **Dr. Abimbola Abiola** Infinitely grateful for the opportunity for know, work, learn and be part of your team in OCCI. Thanks for your hospitality and kindness. You are a very special person to us and you have a special place in our hearts. With affection and respect thank you so much.*

*To **Dr. Paul Tiege** thank you very much for the confidence that you deposited in us to work with you, thanks for the opportunity to learn and explore a new area of work, thanks for your affection and friendship.*

*A **Margarita**, por su valioso apoyo en todo momento, porque es parte fundamental en el posgrado, por su amistad por su paciencia y por todos los bonitos momentos que compartimos.*

*A **M.C. Rosario Jacobo**, por todo el apoyo y las facilidades otorgadas en la determinación de metales para este trabajo.*

*Hago extensivo mi agradecimiento al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico otorgado para la realización de esta maestría y todo mi reconocimiento por fomentar, apoyar e impulsar el desarrollo y la preparación profesional.*

Fitorremediación de Plomo (Pb) y Arsénico (As) con higuera (*Ricinus communis* L.) en asociación con micorrizas

Phytoremediation of Lead (Pb) and Arsenic (As) with castor (*Ricinus communis* L.) in association with mycorrhizae

Meza-Treviño Nancy Yadira ^{1*}, Trejo-Calzada Ricardo ²

RESUMEN

Algunas plantas cultivadas y silvestres se han usado como medio en el proceso de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Así, se han encontrado especies con capacidad de hiperacumular dichos contaminantes. Sin embargo, pocos estudios se han dedicado a la evaluación de especies vegetales nativas o adaptadas a zonas áridas con potencial para fitorremediación. Este estudio se llevó a cabo para evaluar la fitorremediación de plomo y arsénico con *Ricinus communis* L. en asociación con micorrizas. Se estableció un experimento en bloques al azar con cuatro repeticiones. Se utilizaron plantas (n=72), colocadas en macetas de plástico, agregándoles una combinación de tres concentraciones de plomo (0, 400 y 800 mg·kg⁻¹), dos de arsénico (0, 40 mg·kg⁻¹) y tres de micorrizas (0, 5 y 10 g). Se evaluó crecimiento, tasa fotosintética y concentración de plomo y arsénico en raíz, tallo y hoja. La tasa fotosintética no presentó diferencias significativas a través del tiempo. Se detectó un gradiente de concentración de plomo de la raíz a la parte aérea de la planta. En la raíz ocurrió la mayor acumulación de este metal, con una media general de 280.78 mg·kg⁻¹ y el índice de bioacumulación superó la unidad en algunos tratamientos. La mayor concentración de arsénico se presentó en la raíz con una media general de 31.40 mg·kg⁻¹ y el índice de bioacumulación superó la unidad en algunos tratamientos. *R. communis* tiene capacidad para acumular concentraciones de metales pesados principalmente en la raíz y en menor proporción en hoja y tallos, por lo tanto tiene potencial como cultivo para fitoestabilización en suelos contaminados

Palabras clave: Fitorremediación, *Ricinus communis*, plomo, arsénico, micorrizas.

¹ Tesista

² Director

ABSTRACT

Some cultivated and wild plants have been used as a means in the process of phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. Thus, some species that possess hyperaccumulation of such pollutants have been found. However, few studies have been devoted to the evaluation of native arid regions plant species with potential for phytoremediation. This study was conducted to evaluate phytoremediation of lead and arsenic by using *R. communis* L., in association with mycorrhizae. An experiment under randomized blocks design with four replications was established. *R. communis* plants (n = 72), were placed into plastic pots with 11 kg of soil. Three lead concentrations (0, 400 and 800 mg·kg⁻¹), two concentrations of arsenic (0, and 40 mg·kg⁻¹) and three doses of mycorrhiza (0, 5 and 10 g) were applied. Growth, photosynthetic rate and concentration of lead and arsenic in root, stem and leaves were evaluated. The photosynthetic rate was not significantly different over time. A concentration gradient of lead from root to the aerial part of the plant was detected. The greatest accumulation of lead occurred in the root, with an overall mean of 280.78 mg·kg⁻¹. The bioaccumulation index was greater than 1 in some of the treatments. The highest concentration of arsenic was found in the root with an overall mean of 31.40 mg·kg⁻¹ and the bioaccumulation index was greater than the unity in some treatments. *R. communis* accumulates concentrations of heavy metals mainly in the root and to a lesser extent in leaves and stems, therefore has potential as a crop for phytostabilization in contaminated soils.

Keywords: Phytoremediation, *Ricinus communis*, lead, arsenic, mycorrhizae.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO.....	4
III. HIPOTESIS.....	4
IV. REVISION DE LITERATURA.....	5
4.1 Metales pesados	5
4.2 Problemática por metales pesados.....	9
4.3 Remediación de suelos contaminados	10
4.4 Metales en planta y fitotoxicidad.....	12
4.5 Señalización en respuesta al estrés	13
4.6 Mecanismos de protección vegetal.....	16
4.7 Glutación.....	17
4.8 Proteínas de almacenamiento de metales.....	17
4.9 Quelatación de metales por pequeñas moléculas	18
4.10 Micorrizas (Hongos micorrízicos arbusculares)	20
4.11 Las micorrizas en suelos contaminados por metales pesados	21
V. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1 Ubicación del área de estudio	22
5.2 Material vegetal.....	22
5.3 Diseño experimental.....	22
5.4 Evaluación de crecimiento y tasa fotosintética	24
5.5 Determinación de plomo y arsénico en hojas, tallo y raíz mediante digestión por vía seca.	24
5.6 Cuantificación de plomo y arsénico.	25

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1 Crecimiento	26
6.2 Tasa fotosintética	27
6.3 Transpiración	29
6.4 Conductancia estomática	30
6.5 Concentración de Pb en los diferentes órganos de <i>Ricinus communis</i>	30
6.5.1 Concentración de Pb en raíz de <i>Ricinus communis</i>	31
6.5.2 Concentración de Pb en tallo de <i>Ricinus communis</i>	33
6.5.3 Efecto de las micorrizas en la extracción de Pb y As en <i>Ricinus communis</i>	35
6.6 Índice de Bioacumulación de Pb en <i>Ricinus communis</i>	36
6.7 Índice de Traslocación de Pb en <i>Ricinus communis</i>	38
6.8 Concentración de As en los órganos de <i>Ricinus communis</i>	39
6.8.1 Concentración de As en raíz de <i>Ricinus communis</i>	40
6.8.2 Concentración de As en tallo de <i>Ricinus communis</i>	42
6.8.3 Concentración de As en hoja de <i>Ricinus communis</i>	44
6.9 Índice de Bioacumulación de As en <i>Ricinus communis</i>	45
6.10 Índice de Traslocación de As en <i>Ricinus communis</i>	47
VII. CONCLUSIONES	50
VIII. LITERATURA CITADA	51

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Matriz de tratamientos de un experimento de higuera con tres factores variables.	23
Cuadro 2. Medias de acumulación de Pb en los diferentes órganos de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas.....	30
Cuadro 3. Índice de Bioacumulación en plantas de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de Pb.....	37
Cuadro 4. Índice de traslocación de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de plomo.	38
Cuadro 5. Medias de acumulación de As en los diferentes órganos de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas.....	40
Cuadro 6. Índice de Bioacumulación en plantas de <i>Ricinus communis</i> sometida a 40 mg•kg ⁻¹ de As realizando la suma de los tres órganos evaluados contrastada con el suelo.....	45
Cuadro 7. Índice de Traslocación de <i>Ricinus communis</i> sometida a 40 mg•kg ⁻¹ de As. Realizado con la suma de tallos y hojas evaluados contrastada con el total de la concentración de metal en la planta.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Problemática por metales pesados	9
Figura 2. Respuesta vegetal a estrés por metales pesados	19
Figura 3. Tasa de crecimiento relativo (TRC) de <i>Ricinus communis</i> en diferentes tratamientos de plomo y arsénico en el suelo a través del tiempo.	27
Figura 4. Transpiración de las plantas de <i>Ricinus communis</i> a través del tiempo (noviembre 2013- enero 2014). Las medias correspondientes a ocho fechas de medición. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales; (Tukey $P \leq 0.05$).	29
Figura 5. Concentraciones de Pb en raíz de <i>Ricinus communis</i> ., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$	33
Figura 6. Concentraciones de Pb en tallo de <i>Ricinus communis</i> ., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$	34
Figura 7. Concentraciones de As en raíz de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$	42
Figure 8. Concentraciones de As en raíz de <i>Ricinus communis</i> ., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$	43
Figura 9. Concentraciones de As en raíz de <i>Ricinus communis</i> sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$	44

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación es uno de los problemas ambientales más importantes que afectan a nuestro mundo y surge cuando se produce un desequilibrio, como resultado de la adición de cualquier sustancia al medio ambiente, en cantidad tal, que cause efectos adversos en el hombre, animales y plantas expuestos a dosis que sobrepasen los niveles aceptables en la naturaleza (Flores *et al.*, 1995).

Actualmente la contaminación se altera mediante actividades humanas. La liberación de efluentes industriales, emisiones vehiculares, actividades agrícolas, extracción de minerales y el refinamiento de productos mineros son consideradas las principales fuentes de contaminación por metales pesados en los ecosistemas terrestres, acuáticos y aéreos (Jing *et al.*, 2007).

En México como en muchos otros lugares en el mundo, existen innumerables áreas con contaminación ambiental. La Comarca Lagunera es una región que presenta una problemática importante de contaminación de agua, aire y suelo causada por actividades mineras que se han llevado a cabo durante muchos años, además de las fuentes móviles que aumentan con el desarrollo urbano y que incrementan el uso de combustibles fósiles (Lasat, 2002).

Los avances tecnológicos para sanear ambientes contaminados y generar fuentes de energía renovables han conllevado al desarrollo de alternativas que se basan en el empleo de organismos para prevenir daños

provocados por acciones antropogénicas que alteran la estabilidad de los diferentes ecosistemas.

La fitorremediación es uno de los métodos de menor costo para la remoción de metales pesados. Las plantas endémicas de los sitios contaminados pueden estabilizar suelos erosionados o incluso, extraer los metales. Algunas plantas cultivadas y silvestres se han usado como medio en el proceso de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Así, se han encontrado especies con capacidad de hiperacumular dichos contaminantes; también se ha probado que la asociación con micorrizas mejoran el potencial fitoextractor de las plantas en la fitoremediación de suelos contaminados (Ortiz-Cano *et al.*, 2009).

En las regiones áridas y semiáridas que comprenden aproximadamente 103 millones de hectáreas, es decir el 52 % de la superficie continental de México (Solís, 1996; citado por Sosa *et al.*, 2006), existe un reservorio natural de plantas con un potencial para fitorremediación poco estudiado. El uso de plantas de las zonas áridas podría ser un auxiliar en la rehabilitación de suelos contaminados (Trejo *et al.*, 2007), así como una fuente alternativa como materia prima para la producción de biocombustibles. Sin embargo, son pocos los estudios realizados con plantas nativas o adaptadas a las zonas áridas en la fitoextracción de metales pesados; y en su potencialidad como productoras de biocombustibles.

La higuera (*Ricinus communis* L.) es una especie vegetal que gracias a su rusticidad, reducida competencia con cultivos alimenticios, adaptación en

suelos contaminados con metales pesados y gran contenido de aceite en sus semillas incrementan sus posibilidades como cultivo alternativo útil para la remediación de suelos y el abastecimiento de aceite para la producción de biodiesel, y otros usos industriales y agrícolas (Álvarez, 2011). Varios trabajos describen el rendimiento y calidad de aceite para la producción de biodiesel a partir de semillas de higuera como el de Álvarez (2011), quien realizó un estudio en el que llevó a cabo una comparación técnica y económica de manera integral de la propuesta de instalación de una planta para producir biodiesel a partir de la transesterificación de aceites de *Jatropha* (*J. curcas*) e higuera (*R. communis* L), así como el de Alirio-Benavides *et al.* (2007) quienes realizaron un estudio experimental sobre la producción y utilización del biodiesel de aceite de higuera. Sin embargo hay pocos estudios sobre la capacidad fitoextractora de metales pesados de esta especie.

II. OBJETIVO

Evaluar la capacidad fitoextractora de metales pesados de higuera (*R. communis*) en suelos contaminados con plomo y arsénico.

III. HIPOTESIS

H₀. La higuera tiene capacidad fitoextractora de metales pesados y es potenciada por la presencia de micorrizas.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 Metales pesados

“Metales pesados” son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g cm^{-3} cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos).

En los suelos se pueden encontrar diferentes metales, formando parte de los minerales propios, como son silicio (Si), aluminio (Al), hierro (Fe), calcio (Ca), sodio (Na), potasio (K) y magnesio (Mg). También puede encontrarse manganeso (Mn), que generalmente se presenta en el suelo como óxido y/o hidróxido, formando acumulaciones junto con otros elementos metálicos. Algunos de estos metales son esenciales en la nutrición de las plantas, así son requeridos algunos de ellos como el Mn, imprescindible en el fotosistema y activación de algunas enzimas para el metabolismo vegetal (Prieto *et al.*, 2009).

Los metales pesados como plomo, cadmio, cromo, mercurio, zinc, cobre, y la plata, entre otros constituyen un grupo de gran importancia ya que algunos de ellos son esenciales para las células, pero en grandes concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, organismos del suelo, plantas y animales incluido el hombre (Spain, 2003).

Las actividades geológicas naturales, como desgastes de cerros y volcanes, constituyen una fuente de aportaciones importantes de metales pesados al suelo. En este, los metales pesados, pueden estar presentes como iones libres o disponibles, compuestos de sales metálicas solubles o bien, compuestos insolubles o parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos e hidróxidos, (Pineda, 2004).

Dentro de los metales pesados, los denominados oligoelementos o elementos traza, pueden servir como micronutrientes para los cultivos, ya que son requeridos en pequeñas cantidades y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasado cierto umbral se vuelven tóxicos. Algunos de estos son el B, Cu, Mo, Mn, Ni, Fe, y Zn. También hay metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva consigo problemas en el funcionamiento de sus organismos. Algunos de estos elementos tales como el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, y Tl resultan ser muy tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, (García y Dorronsoro, 2005).

La movilidad relativa de los elementos traza en los suelos es de suma importancia en cuanto a su disponibilidad y potencial para lixiviarse hacia las aguas subterráneas y difiere de si su origen es natural o antrópico y, dentro de este último, al tipo de fuente antrópica (Burt *et al.*, 2003).

Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanzan niveles que rebasan los límites tóxicos máximos permitidos para los seres vivos causan

efectos inmediatos como inhibición del crecimiento, desarrollo normal de las plantas, un disturbio funcional en otros componentes del ambiente así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo. El término que se emplea es “polución de suelos” (Martín, 2000).

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental, la cantidad de metales disponibles en el suelo está en función del pH, contenido de arcillas, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico y otras propiedades que las hacen únicas en términos de manejo de la contaminación (Sauve *et al.*, 2000).

El plomo (Pb), por ejemplo, es un contaminante ambiental muy tóxico. Su presencia en el ambiente se debe principalmente a las actividades antropogénicas como la industria, la minería y la fundición. En los suelos contaminados con Pb se suele encontrar también Cd y Zn (Hettiararchchi y Pierzynski, 2002), por analogía entre sus propiedades y características metálicas y lo que ocurre para la triada de Fe-Ni-Co. Cuando se encuentran estos tres elementos juntos, la barrera suelo-planta limita la traslocación de Pb a la cadena alimenticia, ya sea por procesos de inmovilización química en el suelo, según se ha reportado o limitando el crecimiento de la planta antes de que el Pb absorbido alcance valores que puedan ser dañinos al ser humano (Laperche *et al.*, 1997) El Pb presente en suelos contaminados puede llegar a inhibirse mediante la aplicación de fósforo y óxidos de magnesio; sin embargo,

esto puede llegar a afectar la biodisponibilidad de otros metales esenciales como el Zn (Hettiarachchi y Pierzynski, 2002).

4.2 Problemática por metales pesados

Actualmente la contaminación por metales pesados se ha convertido en uno de los principales agentes de estrés abiótico para las plantas. (Figura 2). (Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

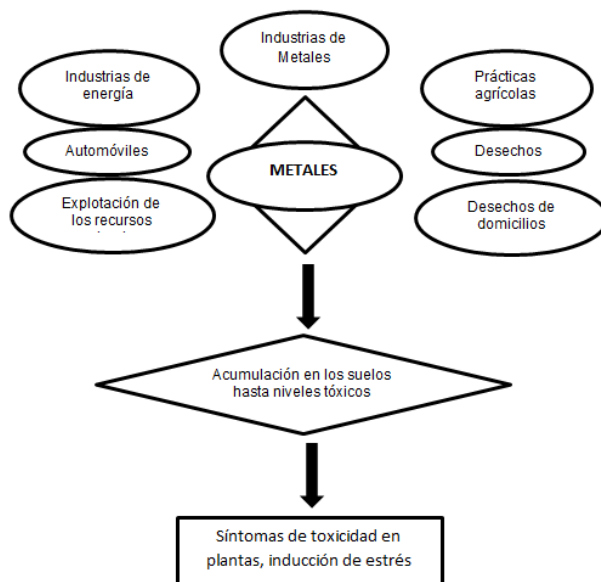


Figura 1. Problemática por metales pesados

La toxicidad de los metales pesados depende de la concentración, forma química y persistencia. Por otra parte, la mayoría de los metales pesados se combina con otras formas químicas, antes de entrar en los organismos o cuando se encuentra en el interior de los mismos; por tanto, antes de determinar la toxicidad de un elemento es necesario determinar la forma química en la que se encuentra. La persistencia se define como el tiempo que tarda un contaminante en transformarse en una forma no tóxica (Martín, 2000).

Los metales pesados están considerados como muy peligrosos, pues poseen una gran toxicidad, en parte debido a su elevada tendencia a bioacumularse. La bioacumulación es un aumento de la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo, de forma que llega a ser superior a la del producto químico en el ambiente. La toxicidad está causada frecuentemente por la imposibilidad del organismo afectado para mantener los niveles necesarios de excreción. El proceso se agrava durante el paso por las distintas cadenas tróficas, debido a que los niveles de incorporación sufren un fuerte incremento a lo largo de sus sucesivos eslabones, siendo en los superiores donde se hallan los mayores niveles de contaminantes. A este proceso se le denomina biomagnificación; es decir, muchas toxinas que están diluidas en un medio, pueden alcanzar concentraciones dañinas dentro de las células, especialmente a través de la cadena trófica (Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

4.3 Remediación de suelos contaminados

Actualmente existen estudios tendientes a reducir la contaminación originada por metales pesados en suelos, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. Por ejemplo, Rodríguez-Ortiz *et al.*, (2006) estudiaron la extracción de Cd y Pb en plantas de tabaco encontrando potencial en dicha planta para este fin.

Esta novedosa tecnología tiene como objetivo disminuir y/o asimilar los metales pesados presentes en el suelo, lo cual tiene muchas ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos en sitios contaminados. En primer lugar es una tecnología de costo reducido, en segundo lugar, posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y en tercer lugar su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal (Harvey *et al.*, 2002).

La fitorremediación no es un remedio sencillo o receta que sea aplicable para todos los suelos contaminados. Antes de que esta tecnología pueda volverse técnicamente eficiente y económicamente viable, hay algunas limitaciones que necesitan ser superadas. Por ejemplo, sus mecanismos tanto moleculares, bioquímicos y fisiológicos son poco conocidos entendidos de manera insuficiente; a pesar de esto, un gran número de plantas definidas como hiperacumuladoras, todavía pueden identificarse y darse a conocer (González, 2005).

La fitorremediación de suelos contaminados es una técnica con muchas posibilidades. El uso de especies vegetales tolerantes a niveles grandes de metales en suelos y agua, permite realizar actividades de restauración con menor impacto ambiental sobre los terrenos que otras técnicas tradicionales, más invasivas y con efectos secundarios adversos. La unión entre la materia orgánica y los metales (formación de moléculas complejas estables), puede disminuir la capacidad de fitoextracción, disminuyendo así la fitotoxicidad y

permitir que se pueda reestablecer la vegetación de sitios contaminados (Robinson *et al.*, 1997).

4.4 Metales en planta y fitotoxicidad

La sensibilidad de las especies vegetales a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y familias, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes. Las diferentes respuestas de las plantas vasculares a metales pesados pueden ser atribuidas a factores genéticos y fisiológicos (Prieto *et al.*, 2005).

En este sentido, Lerda (1992) encontró que el Pb reduce el crecimiento radicular y la frecuencia de células mitóticas y el incremento de la frecuencia de células aberrantes en *A. cepa.*, la intensidad del efecto está en función de la concentración del Pb. Por otra parte, Pal y Nandi (1990) y Liu *et al.* (1995) determinaron el efecto citológico del Hg en los bulbos de esta especie.

Todas las plantas absorben metales del suelo pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal y de las características y contenido de metales del suelo. Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno (Baker, 1981; Barceló y Poschenrieder, 2003). Unas basan su resistencia a los metales en la estrategia de una exclusión eficiente del metal, restringiendo su transporte a la parte aérea. Otras acumulan el metal en la parte aérea en una forma no tóxica para la planta. La exclusión es más característica de especies sensibles y tolerantes a los

metales, mientras que la acumulación es más común en especies que aparecen siempre en suelos contaminados (Prieto *et al.*, 2005).

Una planta ideal que pueda ser utilizada para la fitorremediación de metales pesados deberá poseer múltiples características: ser de rápido crecimiento, tener raíces profundas, producir biomasa abundante, ser fácil de cosechar y ser capaz de tolerar y acumular una gama amplia de metales pesados en sus partes aéreas. Es decir deben ser hipertolerantes e hiperacumuladoras (Clemens *et al.*, 2002). Una planta hiperacumuladora es aquella que contiene una mayor concentración de metales pesados en sus órganos de la que existe en el suelo e hipertolerante es aquella que posee mecanismos internos de detoxificación que le permiten secuestrar metales y metaloides en la vacuola. El fenómeno de hiperacumulación es raro, pero ocurre en plantas terrestres. El factor de bioconcentración en plantas hiperacumuladoras, es decir, la proporción de concentración de metal en sus tallos con respecto a la del suelo, es generalmente mayor a 1 y llega a niveles de 50-100 (McGrath & Zhao, 2003).

4.5 Señalización en respuesta al estrés

Algunos metales pueden ocasionar reducción de la elasticidad y de la extensibilidad de las paredes celulares. Estas alteraciones fisicoquímicas de las paredes celulares pueden deberse a trastornos enzimáticos en la biosíntesis de los constituyentes macromoleculares de la pared, cambios en la distribución de

los microtúbulos y del sistema endomembranoso (aparato de Golgi) y/o cambios en la adhesión entre pared y membrana citoplasmática (Vargas, 2006).

El segundo compartimento celular en contacto con los iones metálicos es la membrana plasmática; por lo tanto, el centro controlador del síndrome tóxico de la absorción de ion metálico hacia el interior de las células es el plasmalema. Los efectos iniciales sobre la membrana citoplasmática dependen de la actividad iónica en la superficie externa del plasmalema de las células radiculares, aunque generalmente los efectos observados se traducen en rotura de las membranas, pérdida de compartimentación celular y, como síntomas finales, apoptosis y necrosis (Cordero *et al.*, 2005).

Aunque el mecanismo primario responsable de la disfunción de las membranas es la peroxidación de lípidos, no se puede confundir el estrés oxidativo de la fase degenerativa con el metabolismo oxidativo causado por cationes metálicos para generar radicales libres de oxígeno y de especies reactivas de oxígeno (ROS) que, a su vez, dañan crónicamente las membranas, los ácidos nucleicos y la fotosíntesis (Vargas, 2006).

Los metales pesados inhiben el flujo de electrones de la cadena de transporte o del ciclo de Calvin; por lo tanto, cuando la intensidad lumínica es grande, el aparato fotosintético absorbe más energía lumínica que la que suele utilizarse en las reacciones metabólicas normales (Cordero *et al.*, 2005). Como consecuencia, el aparato fotosintético transfiere la energía a los únicos aceptores disponibles en los cloroplastos: los radicales de oxígeno, cuyo

producto, el radical anión superóxido, forma peróxido de hidrógeno. El exceso de peróxido de hidrógeno fomenta la formación de radicales hidroxilo ($\text{OH}^\cdot$), oxidantes fuertes de ácidos orgánicos que pueden iniciar la formación en cadena de nuevos radicales muy tóxicos para las células. La inhibición de la cadena de transporte electrónico fotosintético también puede favorecer la transferencia de energía desde la clorofila excitada por la luz hacia el O_2 formándose oxígeno en el estado excitado, el cual, debido a su elevada reactividad es muy tóxico para las células (Hall, 2002).

La reacción de defensa de las células consiste en la producción de enzimas antioxidantes como la peroxidasa y superóxido dismutasa (SOD), mediante la cadena redox ascorbato-glutación (antioxidante). Sin embargo, la toxicidad de los metales pesados ocasiona disminución de la capacidad antioxidante de las células. También se ha observado la inhibición de la asimilación de CO_2 , tanto por aumento en la resistencia estomática, como de la resistencia mesofílica. Las plantas expuestas a Cd, Al, Cu, Cr, Ni, Zn o Hg pueden cerrar los estomas por déficit hídrico inducido por los metales a causa de sus efectos tóxicos iniciales en las raíces y su interferencia con la absorción y traslocación del agua. (Vargas, 2006).

La reducción de la apertura estomática en la inhibición de la fotosíntesis inducida por metales pesados seguramente depende del tipo de metal. El Cd, I y Al inhiben, con similar intensidad, la fotosíntesis y transpiración, mientras que el Zn, Pb y Cu pueden causar una reducción drástica en la eficiencia del uso del

agua, lo que sugiere que factores diferentes a los propios de cierre de estomas juegan un papel en la inhibición de la fotosíntesis por estos metales (Corinne *et al.*, 2006).

Las adaptaciones específicas de las plantas al estrés por metales se basan en mecanismos de resistencia que reducen su entrada en la planta, o que, una vez absorbidos, permiten su almacenamiento en lugares no perjudiciales para las células (Vargas, 2006).

4.6 Mecanismos de protección vegetal

Existe un rango amplio de mecanismos de protección en las células vegetales que sirven para eliminar algún tipo de oxígeno reactivo (ROS) antes de que puedan dañar partes sensibles de la máquina celular. Los mecanismos se dividen en dos grupos: antioxidantes-no-enzimáticos (tocoferoles, carotenoides, componentes del ácido ascórbico (AsA) y glutatión (GSH), incluyendo sus formas oxidadas antioxidantes) y enzimáticos (catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasas (SOD), además de las enzimas del ciclo ascorbato-glutatión tales como ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR) (Waldemar, 2007).

Una vez adentro de las células vegetales los metales pesados en exceso y no necesarios para el metabolismo, son almacenados para evitar toxicidad. Este mecanismo es llevado a cabo por diversas proteínas y péptidos específicos y por varias moléculas orgánicas pequeñas. (Hall, 2002).

4.7 Glutación

El glutatión (GSH) es un tripéptido que contiene un enlace peptídico inusual entre el grupo amino de la cisteína y el grupo carboxilo de la cadena lateral de glutamato. Es un antioxidante, y protege a las células de toxinas tales como los radicales libres (Waldemar, 2007).

El glutatión se encuentra casi exclusivamente en su forma reducida, ya que la enzima que lo revierte a partir de su forma oxidada (GSSG), la glutatión reductasa, es constitutivamente activa e inducible en condiciones de estrés oxidativo. De hecho, la proporción de glutatión reducido respecto a la de glutatión oxidado dentro de las células se utiliza a menudo científicamente como una medida de toxicidad celular (Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

4.8 Proteínas de almacenamiento de metales

Las principales proteínas responsables del almacenamiento y detoxificación de metales pesados son: las ferritinas y metalotioneinas. Las ferritinas son proteínas multiméricas de almacenamiento de hierro capaces de secuestrar varios miles de átomos de hierro por molécula. En las plantas, son codificadas por una pequeña familia de genes y se localizan en los plástidos. Constituyen un importante componente de la respuesta al estrés oxidativo y probablemente participen en la protección de los plástidos contra el estrés, almacenando un exceso de hierro libre, el cual incrementa la concentración de dehidroascorbato

y disminuye la concentración de ascorbato. Las metalotioneinas son pequeñas proteínas que secuestran el exceso de ciertos metales, más frecuentemente: zinc, cobre y cadmio, por coordinación de estos metales con residuos de cisteína. Estas proteínas han recibido gran atención en el último decenio porque se creía la quelatación intracelular de metales era llevada a cabo exclusivamente por las fitoquelatinas (Navarro Aviñó *et al.*, 2007). Las fitoquelatinas también llamadas metalotioneinas de clase III, a nivel celular son sintetizadas en el citosol y transportadas a las vacuolas.

4.9 Quelatación de metales por pequeñas moléculas

Un gran número de compuestos de muy poco peso molecular juegan un importante papel en el manejo de metales pesados en las plantas. Entre ellos, algunos ácidos orgánicos, aminoácidos y derivados fosfatados son de particular interés. El citrato, por ejemplo, tiene una gran capacidad de quelatación con hierro, níquel y Cd. Algunos aminoácidos y derivados son muy buenos quelatantes. Esta propiedad le confiere resistencia al vegetal ante concentraciones tóxicas de metales pesados (Liu *et al.*, 1995).

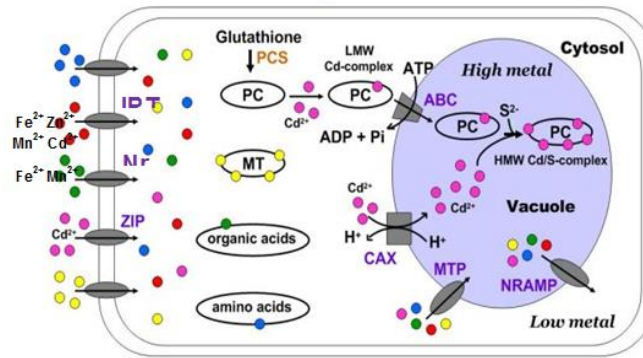


Figura 2. Respuesta vegetal a estrés por metales pesados

Algunas estrategias para evitar el aumento de metales pesados pueden ser: a nivel extracelular, la aparición de micorrizas y exudados en la pared celular. Los mecanismos de tolerancia pueden involucrar la membrana plasmática, ya sea reduciendo la captación o por la estimulación de las bombas de eflujo de metales pesados que han entrado a la célula. Dentro del protoplasto existen una variedad de mecanismos para la reparación de proteínas dañadas por el estrés con la participación de las proteínas del choque de calor (HSP) o metalotioneinas y la quelatación de metales por aminoácidos, ácidos orgánicos o péptidos, o su compartimentalización hacia las vacuolas (Vargas, 2006).

La tolerancia a los metales pesados puede definirse como la habilidad para sobrevivir en un suelo que es tóxico para otras plantas y se manifiesta por una interacción entre genotipo y ambiente. Tal tolerancia adaptativa al MP estaría gobernada por un pequeño número genes. Aún queda por resolver si un cambio único bioquímico o molecular es requerido para producir la tolerancia a un MP específico y los estudios siguen en auge para conocer más a fondo todos los

procesos que se dan en las plantas por diferentes tipos de estrés abiótico (Jonak *et al.*, 2004).

4.10 Micorrizas (Hongos micorrízicos arbusculares)

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que establecen una simbiosis mutualista con la mayoría de las plantas, formando una unión física entre el suelo y las raíces de éstas. Aproximadamente el 95% de las especies de plantas en el mundo se asocian a una familia característica de micorrizas y se benefician potencialmente de los hongos, mediante el suministro de nutrimentos. La simbiosis con micorrizas arbusculares se presenta en casi todos los tipos de hábitat, en donde interaccionan con otros organismos, algunos de ellos patógenos y también en suelos perturbados o contaminados por metales pesados.

Los micorrizas son un grupo muy selecto de hongos que pertenecen al Phylum *Glomeromycota*, (Schußler *et al.*, 2001). Las micorrizas se distinguen de otros grupos de hongos por la falta de reproducción sexual, además son simbioses obligados y sólo pueden germinar, pero no crecer, en ausencia de las raíces de las plantas (Smith y Read, 1997).

Se conoce que las plantas micorrizadas incrementan su fecundidad en comparación con las plantas no micorrizadas, por lo que la simbiosis micorrízica cobra mayor interés, especialmente en la investigación agronómica. En los hongos micorrízicos el micelio incrementa el área de absorción de la raíz de la planta hasta en 100 veces (Smith y Read, 1997) y las plantas micorrizadas

tienen así mayor contenido de macro y micro nutrientes (Clark y Zeto, 1996). En general, las plantas micorrizadas presentan un incremento en las tasas fotosintéticas (Dixon *et al.*, 1994) y mayor tolerancia a la sequía (Osonobi *et al.*, 1992) y salinidad (Rosendhal y Rosendhal, 1991). También es notorio que se incrementa la tolerancia de la raíz a patógenos y la captación de metales pesados en suelos contaminados (Smith y Read, 1997).

4.11 Las micorrizas en suelos contaminados por metales pesados

Los hongos micorrízicos se encuentran en el suelo en la mayoría de los ecosistemas, incluyendo suelos contaminados. Los hongos micorrízicos mejoran el estado nutricional de sus hospederos (las plantas), por medio de adquisición de fosfatos y micronutrientes. De manera similar, los metales pesados son absorbidos por la vía de la hifa fúngica y pueden ser transportados por la planta. De esta manera, en algunos casos las plantas micorrizadas pueden demostrar aumento en la toma de metales pesados y éstos pueden ser transportados de la raíz al tallo (fitoextracción), mientras que en otros casos los hongos micorrízicos contribuyen a la inmovilización de los metales pesados dentro del suelo (fitoestabilización). El resultado de la eficiencia de colonización micorrízica como descontaminante de suelos depende de la combinación de la planta/hongo/metal y de su influencia sobre condiciones del suelo (Gaur y Adholeya, 2004).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el vivero de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo, (URUZA-UACH) en Bermejillo, Durango. Sus coordenadas geográficas son 25°53'31.99" latitud norte y 103°36'11.23" longitud oeste; mientras que su altitud media es de 1,117msnm.

5.2 Material vegetal

Las semillas de higuera (*Ricinus communis* L.) utilizadas fueron donadas por el proyecto nacional de biocombustibles. Estas fueron sembradas en vasos de poliuretano empleando turba de musgo (peat moss) como sustrato. Una vez que apareció la segunda hoja verdadera, las plántulas se trasplantaron a macetas con 11 kg de suelo.

5.3 Diseño experimental

El experimento se estableció con un diseño experimental en bloques al azar con cuatro repeticiones. Los factores fueron los siguientes: plomo como nitrato de plomo $[Pb(NO_3)_2]$ (niveles de 0, 400 y 800 mg Kg^{-1}), concentración de arsénico como arsenito de sodio $[NaAsO_2]$ (niveles de 0 y 40 mg Kg^{-1}) y complejo micorrízico (niveles de 0, 5 y 10 g maceta) mediante el producto comercial PHC HORTIC PLUS®, que contiene la mezcla de micorrizas (*Entrophospora columbiana*, *Glomus intraradices*, *G. etunicatum* y *G. clarum*).

En total hubo 18 tratamientos, producto de la combinación de los niveles de los factores (Cuadro 1). La unidad experimental fue constituida por una maceta con una planta de higuera. Los metales se agregaron en solución una vez que las plántulas se establecieron completamente en las macetas con suelo. Las micorrizas se adicionaron directamente en el suelo cerca de la raíz a una distancia de 2 cm y una profundidad de 5 cm.

Cuadro 1. Matriz de tratamientos de un experimento de higuera con tres factores variables.

Tratamiento	Concentración de Pb (mg Kg⁻¹)	Concentración de As (mg Kg⁻¹)	Dosis de micorrizas (g)
1	0	0	0
2	0	0	5
3	0	0	10
4	0	40	0
5	0	40	5
6	0	40	10
7	400	0	0
8	400	0	5
9	400	0	10
10	400	40	0
11	400	40	5
12	400	40	10
13	800	0	0
14	800	0	5
15	800	0	10
16	800	40	0
17	800	40	5
18	800	40	10

El experimento se mantuvo durante un periodo de siete meses a partir de la germinación (mayo 2012 – enero 2013) y un periodo de cuatro meses con los tratamientos correspondientes (octubre 2012 – enero 2013). El riego se realizó cada tercer día aplicando 2 L de agua a cada unidad experimental. Éste se ajustó de acuerdo a las condiciones ambientales para evitar un déficit hídrico.

5.4 Evaluación de crecimiento y tasa fotosintética

La altura de las plantas se registró mensualmente, mientras que las variables tasa fotosintética, transpiración, conductancia estomática y eficiencia en el uso de agua cada 2 semanas. La determinación de la tasa fotosintética de higuera ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), se realizó mediante un analizador de gases infrarrojo (IRGA por sus siglas en inglés), modelo LICOR LI-6400®, en el cual se usó una concentración constante de CO_2 de referencia de $400 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, con una fuente externa de este gas, y el flujo de aire se ajustó a $400 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ (Landeros-Márquez *et al.*, 2011).

5.5 Determinación de plomo y arsénico en hojas, tallo y raíz mediante digestión por vía seca.

Las muestras de hojas, tallo y raíz se lavaron con agua destilada y se deshidrataron en estufa a 75°C durante 24 horas. Las muestras secas se maceraron en un molino. Después, 1 g de muestra se colocó en un crisol de porcelana y se añadieron 10 mL de ácido nítrico concentrado. Las muestras se secaron en una parrilla de calentamiento hasta cenizas, se colocaron en mufla a

una temperatura de 500 a 550°C durante un periodo de 6 a 24 horas hasta la calcinación, una vez obtenidas las muestras, las paredes del crisol se lavaron con 2 mL de ácido nítrico al 50% y se colocaron en placa de calentamiento a 120°C para remover el exceso de ácido. Las cenizas se redisolviéron completamente en 5 mL de ácido clorhídrico 1 N; los crisoles se enjuagaron con dos alícuotas de 5 mL de ácido clorhídrico 1 N. La muestra se filtró con papel Whatman No. 2, y se aforó a 50 ml en recipientes de plástico antes de la cuantificación.

5.6 Cuantificación de plomo y arsénico.

Las determinaciones de plomo y arsénico se llevaron a cabo en un espectrofotómetro de absorción atómica marca PerkinElmer modelo AAnalyst 700, por método de flama y horno de grafito respectivamente. Esto fue llevado a cabo en el laboratorio de Agua-Suelo-Planta del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua, Suelo, Planta, Atmósfera (CENID RASPA). Las curvas de calibración fueron obtenidas utilizando estándares certificados de plomo y arsénico preparados a partir de una solución concentrada de 1000 mg de metal/L, marca Perkin Elmer Pure.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Crecimiento

El crecimiento vegetal es considerado como el cambio irreversible en el tiempo de algún atributo físico, en tamaño (masa, volumen o área), forma y ocasionalmente en número (Peixoto *et al.*, 2009; Lambers *et al.*, 2006). En los vegetales, el crecimiento es la consecuencia de la interacción de todos los procesos fisiológicos como fotosíntesis, respiración y nutrición, entre otros, como resultado de su genética y del ambiente en el cual se desarrollan (Lambers *et al.*, 2006).

Un análisis global de la altura registrada a través del tiempo detectó diferencias no significativas de la altura de las plantas entre los diferentes tratamientos. ($F=1.195$, $gl= 17, 51$, $P = 0.302$).

A pesar de que en algunos tratamientos la tasa relativa de crecimiento (TRC) se mantuvo a niveles mayores en las últimas fechas del experimento, el análisis estadístico detectó diferencias no significativas ($F=1.39$, $gl= 17, 51$, $P=0.201$). Estos resultados son un claro indicador de que las concentraciones de plomo y arsénico empleadas en este experimento no afectaron el crecimiento de las plantas de higuera (Figura 3).

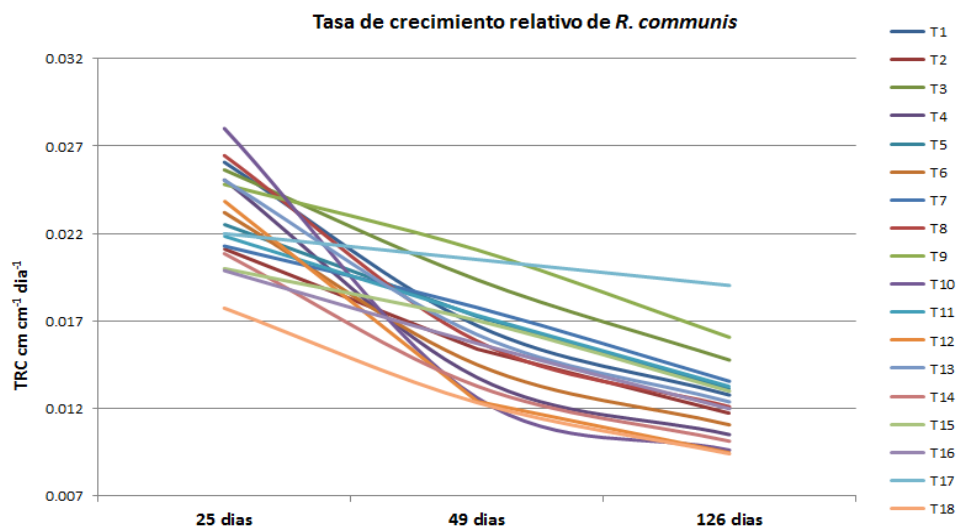


Figura 3. Tasa de crecimiento relativo (TRC) de *Ricinus communis* en diferentes tratamientos de plomo y arsénico en el suelo a través del tiempo.

6.2 Tasa fotosintética

Los factores ambientales que influyen en la fotosíntesis son: luz, temperatura, concentración de CO_2 en el aire, disponibilidad de agua, diferencia de la presión de vapor de agua entre las hojas y el aire, fertilidad del suelo, salinidad, y la interacciones entre ellos. La variación de las condiciones ambientales afecta la actividad fotosintética, a corto plazo (días a semanas), debido a que, regulan la conductancia estomática y la capacidad asimilatoria de las células mesofílicas, a largo plazo, este proceso es afectado a través de cambios en la arquitectura y tamaño (Pallardy, 2008). Algunos autores como Zhao Yang y Chengcai Chu (2007) mencionan que metales como el Cd, I y Al inhiben, con similar intensidad, la fotosíntesis y la transpiración, mientras que el Zn, Pb y Cu pueden causar una drástica reducción en la eficiencia del uso del agua, lo que sugiere

que factores diferentes a los propios de cierre de estomas juegan un papel en la inhibición de la fotosíntesis por efecto de estos metales.

En este estudio las concentraciones de plomo y arsénico produjeron efectos con diferencias no significativas de tasa fotosintética de las plantas de *R. communis* a través del tiempo. Esto coincide con lo reportado por Landeros *et al.*, (2011) quienes mencionan que las concentraciones de plomo y nitrógeno utilizadas en su estudio produjeron diferencias no significativas de tasa fotosintética en plantas de huizache.

La ausencia de efectos con diferencias significativas sobre la tasa fotosintética de las concentraciones de plomo o arsénico en el sustrato puede indicar que la higuera posee o puede desarrollar mecanismos de defensa que le permiten acumular el metal en la pared celular y así inmovilizar los iones para evitar sus efectos tóxicos, o bien mecanismos de detoxificación; ello coincide con los resultados de Landeros *et al.*, (2011) en *Acacia farnesiana* L. Will, así como con lo de Jian y Liu (2010) en un estudio realizado en *Allium sativum*.

Algunos autores (e.g. Rossel *et al.*, 2007) mencionan que la acumulación de metales pesados provoca estrés oxidativo y la aclimatación a condiciones de estrés mediante la inducción de genes relacionados con la respuesta al estrés oxidativo que involucre alteración de la tasa fotosintética. Athanasiou *et al.* (2010) mostraron que algunas plantas tienen la habilidad de modificar su fotosíntesis en condiciones de estrés a través de cambios estructurales o por medio de cambios subcelulares. Debido a esto en la higuera podría estar

involucrada alguna respuesta para que la fotosíntesis se mantuviera aun en condiciones de concentraciones grandes de plomo y arsénico.

6.3 Transpiración

La variable transpiración mostró diferencias no significativas entre los 18 tratamientos a través del tiempo ($F=0.756$, $gl= 17, 51$, $P = 0.731$). La tendencia muestra que conforme disminuye la temperatura ambiental la transpiración se reduce (Figura 4).

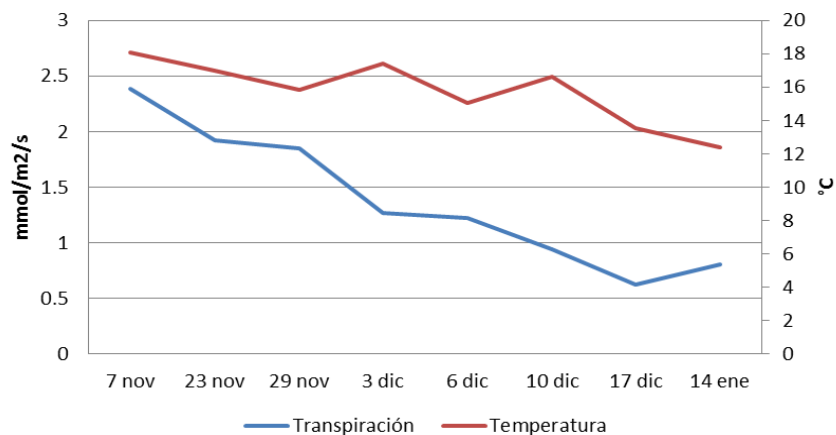


Figura 4. Transpiración de las plantas de *Ricinus communis* a través del tiempo (noviembre 2013- enero 2014). Las medias correspondientes a ocho fechas de medición. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales; (Tukey $P \leq 0.05$).

6.4 Conductancia estomática

La conductancia estomática mostró diferencias no significativas ($P = 0.076$) entre los 18 tratamientos, al igual que la variable transpiración.

6.5 Concentración de Pb en los diferentes órganos de *Ricinus communis*

El Pb extraído por las plantas de higuera se detectó en todos los tejidos (raíz, tallo y hojas) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Medias de acumulación de Pb en los diferentes órganos de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas.

Tratamiento	Pb (mg Kg ⁻¹)	As (mg Kg ⁻¹)	Micorrizas (g).	Pb en Raíz (mg Kg ⁻¹)	Pb en Tallo (mg Kg ⁻¹)	Pb en Hoja (mg Kg ⁻¹)
16	800	40	0	806.0 ^a	9.713 ^{ab}	9.59 ^a
14	800	0	5	637.2 ^{ab}	25.013 ^{ab}	6.19 ^a
18	800	40	10	604.8 ^{ab}	40.725 ^a	14.10 ^a
13	800	0	0	547.4 ^{ab}	20.3 ^{ab}	12.74 ^a
7	400	0	0	507.4 ^{ab}	8.488 ^{ab}	89.71 ^a
15	800	0	10	477.2 ^{ab}	9.700 ^{ab}	4.80 ^a
8	400	0	5	263.2 ^{ab}	9.350 ^{ab}	9.05 ^a
17	800	40	5	254.8 ^{ab}	13.663 ^{ab}	23.75 ^a
10	400	40	0	227.8 ^{ab}	6.038 ^{ab}	5.88 ^a
9	400	0	10	224.8 ^{ab}	6.138 ^{ab}	5.44 ^a
11	400	40	5	108.0 ^b	4.038 ^b	5.54 ^a
12	400	40	10	100.9 ^b	8.225 ^{ab}	5.28 ^a
1	0	0	0	50.9 ^b	5.400 ^{ab}	66.68 ^a
2	0	0	5	50.5 ^b	3.075 ^b	0.88 ^a
3	0	0	10	49.9 ^b	1.788 ^b	8.95 ^a
6	0	40	10	49.5 ^b	0.688 ^b	8.95 ^a
4	0	40	0	48.2 ^b	0.900 ^b	5.49 ^a
5	0	40	5	45.7 ^b	0.750 ^b	4.10 ^a

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son diferentes a nivel no significativo. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $P \leq 0.05$.

Pichtel *et al.*, (2000) reportan que las especies de plantas herbáceas y leñosas que crecen en suelos contaminados extraen gran cantidad de plomo. El 70% de las especies que analizaron presentaron concentraciones grandes de plomo en raíz en comparación con los otros tejidos.

En este estudio, la concentración de Pb en los tejidos dependió de los diferentes órganos de la planta. El patrón de concentración de Pb fue raíz $\geq$ hoja $\geq$ tallo (Cuadro 2). La concentración media de Pb fue 280.78 mg kg⁻¹ en las raíces, 9.66 mg kg⁻¹ en tallo y 16.19 mg kg⁻¹ en hojas.

6.5.1 Concentración de Pb en raíz de *Ricinus communis*

La concentración mayor se obtuvo en la raíz. Ello coincide con Pichtel *et al.*, (2000) y Pichtel y Salt (1998) quienes mencionan que la concentración mayor de Pb en *R. communis* se encontró en la raíz, probablemente debido a que no hubo translocación del metal a las hojas y esto puede indicar un mecanismo de tolerancia de la planta. Sin embargo, los resultados contrastan con los de Dahmani-Muller *et al.*, (2000) quienes reportaron que plantas de *Cardaminopsis halleri* que crecen cerca de una planta industrial de fundición mostraron un patrón de concentración de Pb en los tejidos hojas > tallos > raíces. Las concentraciones de Pb en hojas y tallos fueron de 7 y 1.5 veces respectivamente mayor que en la raíz. Los datos sugieren que la absorción de Pb y su transporte no fueron afectados en las raíces. Un mecanismo de difusión puede permitir que el Pb pueda ser transportado con la savia de los tallos a las

hojas. Miller y Koepe (1981) demostraron que las plantas de *Zea mays* L., translocan y acumulan cantidades significativas de Pb en las hojas en una forma dependiente de la concentración.

Jarvis y Leung (2002) declararon que la combinación de agentes quelatantes (H-EDTA o EDTA) y pH pequeño impidió la retención de Pb en la pared celular de la raíz haciendo disponible la traslocación del metal hacia los brotes.

Los tratamientos aplicados en este estudio provocaron una acumulación diferencial de Pb en *R. communis*. En los tres órganos la acumulación mayor ocurrió por efecto de los tratamientos con las concentraciones máximas del metal en el sustrato 400 y 800 mg·kg⁻¹ y la menor concentración se presentó asociada a los tratamientos en los que no se aplicó metal (Cuadro 3). La concentración de Pb en la raíz de *R. communis* fue estadísticamente igual en la mayoría de los tratamientos con 400 y 800 mg Pb Kg⁻¹ excepto el tratamiento 16 en el que la concentración de plomo superó significativamente a la encontrada en las plantas sometidas a los tratamientos 11 y 12. A pesar de que las concentraciones de Pb tendieron a ser mayores numéricamente en los tratamientos con plomo comparadas con las del testigo únicamente el tratamiento 16 (800 mg Pb Kg⁻¹, 40 mg As Kg⁻¹) presentó una diferencia significativa (Figura 5).

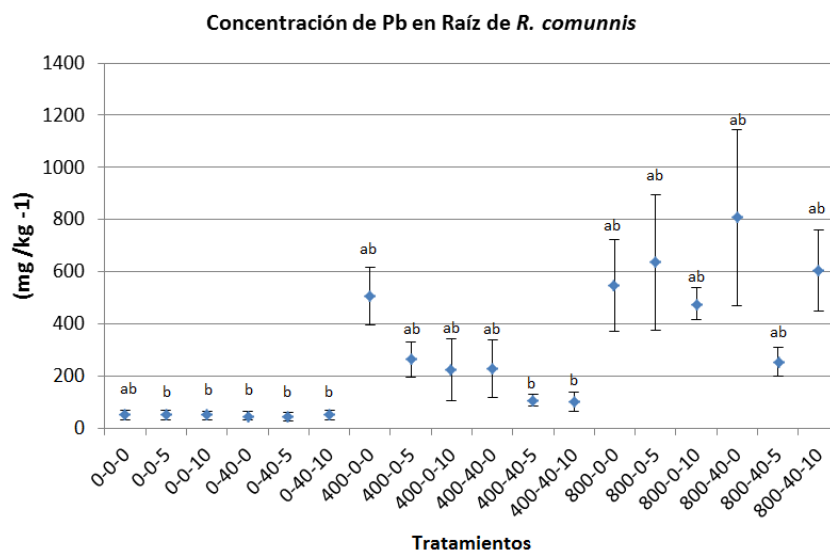


Figura 5. Concentraciones de Pb en raíz de *Ricinus communis*., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$.

6.5.2 Concentración de Pb en tallo de *Ricinus communis*

El tratamiento de 800 mg·kg⁻¹ de Pb produjo una acumulación mayor en tallo con relación a los tratamientos en los que no se aplicó el metal pesado. Esto coincide con lo reportado por Landeros *et al.*, (2011) en su estudio de fitoextracción de plomo en huizache. Ellos mencionan que la acumulación mayor del metal en los órganos de la planta aumenta conforme la concentración del metal en el sustrato es mayor (Figura 6).

En general, hubo una tendencia a mayor acumulación de plomo en raíz y hojas, comparada con la acumulación en tallos. La detección de plomo en plantas del tratamiento testigo podría atribuirse al plomo presente en el suelo empleado para el experimento (Figura 6).

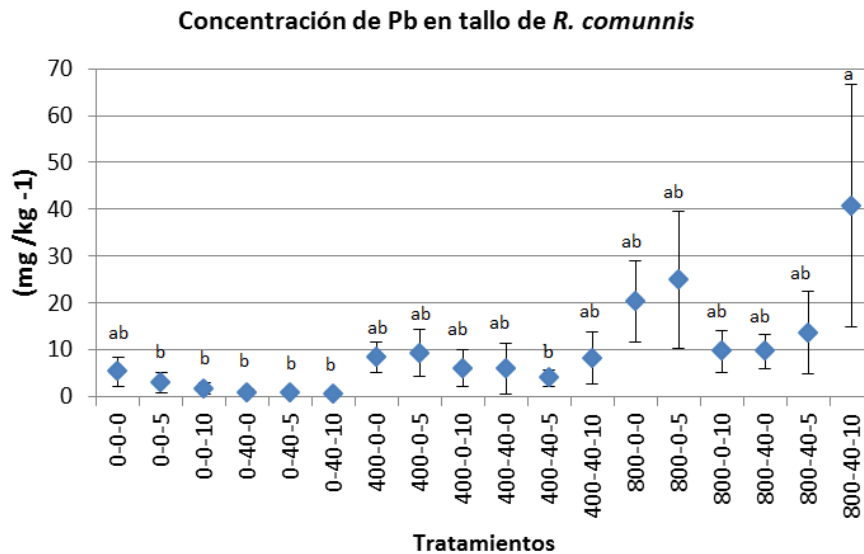


Figura 6. Concentraciones de Pb en tallo de *Ricinus communis*., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$.

Respecto a la tendencia en la acumulación de plomo en *R. communis* en este estudio, el tallo es el órgano que menos acumulación presentó, lo que difiere con lo reportado con Landeros *et al.*, (2011) quienes reportan al tallo como el órgano que presenta una mayor acumulación de plomo en huizache. Esta distribución de la acumulación de plomo en los tejidos de *R. communis* puede servir para la determinación de métodos de manejo en un proceso de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Dado que las raíces son las que más acumulan el metal pesado, esta especie podría ser empleada en fitoestabilización, la cual permite inmovilizar contaminantes en el suelo a través de su absorción y acumulación en este órgano de la planta, por precipitación en la zona de la rizósfera. Este proceso reduce la movilidad de los

contaminantes y evita su migración a las aguas subterráneas o al aire (Barton *et al.*, 2005; Méndez y Maier, 2008).

6.5.3 Efecto de las micorrizas en la extracción de Pb y As en *Ricinus communis*.

La adición de micorrizas al sustrato parece no tener efecto significativo sobre la acumulación de plomo y arsénico en la raíz, dado que los tratamientos con las diferentes dosis de hongos fueron estadísticamente diferentes a nivel no significativo (Cuadros 3 y 6). Kumar *et al.*, (1995) mencionan que cuando el plomo se encuentra presente en el suelo puede entrar en la raíz a través de la difusión pasiva. Estudios de absorción de Pb en plantas como el de Gaur y Andholeya (2004) han demostrado que la mayor parte de éste metal se queda en las raíces ya que la retención de Pb en ellas se basa en la unión de Pb a los sitios de intercambio iónico en la pared celular.

Rabie (2005) menciona que en algunos casos las plantas micorrizadas pueden mostrar mayor captación de metales pesados por la raíz y aumentar el transporte de estos a la parte aérea de la planta (fitoextracción), sin embargo González–Chávez *et al.*, (2004) mencionan que en otros casos el uso de micorrizas contribuye a la inmovilización del metal en las raíces de las plantas o en el suelo (fitoestabilización). Esto muestra que el resultado de la micorrización de plantas con fines de fitorremediación de suelos contaminados

depende de la combinación planta–hongo–metal y está influenciado por las condiciones del suelo.

Las diferencias de la acumulación de plomo y arsénico en tallo y hojas por efecto de tratamientos fueron no significativas. Esto implica que independientemente de la acumulación del metal en la raíz, la tasa de traslocación hacia la parte aérea de la planta es mínima o limitada.

Sin embargo es recomendable que en futuros estudios se aumentaran las dosis de micorrizas y los rangos de exploración de los otros factores sean más amplios para que se evalúe de mejor manera la capacidad de las micorrizas sobre la extracción de metales pesados.

6.6 Índice de Bioacumulación de Pb en *Ricinus communis*

Las concentraciones obtenidas fueron usadas para estimar los índices de bioconcentración (IBA) y translocación (IT). El índice de bioacumulación fue expresado mediante la proporción de la concentración del metal en la planta sobre la concentración total en el suelo. El índice se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$IBA = \frac{\text{Concentracion del metal en la planta}}{\text{Concentracion de metal en el suelo}}$$

El tratamiento 12 mostró el IBA menor, ya que considerando la concentración del metal en este tratamiento ($400 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$) se observa un porcentaje menor al que tienen disponible. Esto puede indicar que *R. communis* tiene diversos mecanismos de control de la cantidad del metal que ingresa a la misma, moderando así la toxicidad y estrés producido en ella. Por otra parte el tratamiento 16 mostró un IBA mayor a 1, lo que indica que la higuera puede ser empleada en programas de fitorremediación. La fitoestabilización puede ser la mejor alternativa de manejo con esta especie.

Cuadro 3. Índice de Bioacumulación en plantas de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de Pb.

Tratamiento	Planta	Pb en suelo ($\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$)	IBA ($\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$)
16	825.31	800	1.032 ^a
14	668.36	800	0.835 ^{ab}
18	659.58	800	0.824 ^{abc}
7	605.60	400	1.514 ^{abc}
13	580.46	800	0.726 ^{abc}
15	491.70	800	0.615 ^{abc}
17	292.19	800	0.365 ^{abc}
8	281.63	400	0.704 ^{abc}
10	239.73	400	0.599 ^{abc}
9	236.39	400	0.591 ^{abc}
11	117.59	400	0.294 ^{bcd}
12	114.40	400	0.286 ^{bcd}

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, no son significativamente diferentes. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $P \leq 0.05$.

6.7 Índice de Traslocación de Pb en *Ricinus communis*

El índice de translocación para los metales en las plantas se calculó como la concentración en la parte aérea dividida entre la acumulación neta en la planta, mediante la siguiente formula:

$$TI\% = \frac{\text{Acumulación en la parte aerea (hojas y tallo)}}{\text{Acumulación neta (planta)}} \times 100$$

Es posible visualizar que la concentración de Pb en *R. communis* en el tratamiento 16 es mayor que el resto; sin embargo, el índice de traslocación para las hojas y tallos es el menor; esto puede deberse a que la acumulación mayor de Pb se encuentra en raíz y otras porciones de la planta pero no en hojas y tallos. Esto puede indicar un mecanismo que permite mantener bajas concentraciones de Pb en la parte aérea a pesar de que las concentraciones en el suelo aumenten; esto abre la pauta para realizar estudios posteriores en el que se aumenten las concentraciones de plomo.

Cuadro 4. Índice de traslocación de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de plomo.

Tratamiento	Hojas y tallo	Planta	TI%
400,0,0	98.2	605.6	16.215
400,0,5	18.4	281.625	6.534
400,0,10	11.58	236.3875	4.897
400,40,0	11.91	239.725	4.969
400,40,5	9.58	117.5875	8.143
400,40,10	13.5	114.4	11.801
800,0,0,	33.04	580.4625	5.692
800,0,5	31.2	668.3625	4.668
800,0,10	14.5	491.7	2.949
800,40,0	19.3	825.3125	2.339
800,40,5	37.41	292.1875	12.804
800,40,10	54.83	659.575	8.312

6.8 Concentración de As en los órganos de *Ricinus communis*

El As extraído por las plantas de higuera se detectó en todos los tejidos (raíz, tallo y hojas). El patrón de concentración de arsénico fue raíz-hoja-tallo. La concentración de As fue 31.42 mg kg^{-1} en las raíces, 1.86 mg kg^{-1} en tallo y 2.14 mg kg^{-1} en hoja.

La concentración de arsénico en raíz de *R. communis* presenta diferencias significativas entre tratamientos ($P= 0.0001$).

Los tratamientos aplicados provocaron una acumulación diferencial de As en raíz, tallo y hojas de *R. communis*. En los tres órganos la acumulación mayor ocurrió en los tratamientos con la concentración máxima del metal en el sustrato ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) y las concentraciones menores se presentaron en los tratamientos en los que no se aplicó este metal (Cuadro 5).

Cuadro 5. Medias de acumulación de As en los diferentes órganos de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas.

Tratamiento	Pb (mg·Kg ⁻¹)	As (mg·Kg ⁻¹)	Micorrizas (g).	As en Raíz (mg·Kg ⁻¹)	As en Tallo (mg·Kg ⁻¹)	As en Hoja (mg·Kg ⁻¹)
6	0	40	10	52.153 ^a	3.0215 ^{ab}	4.2744 ^{ab}
5	0	40	5	51.512 ^{ab}	2.7334 ^{abc}	5.4507 ^a
4	0	40	0	50.012 ^{ab}	3.4607 ^a	2.4487 ^{bcde}
10	400	40	0	47.407 ^{ab}	2.2875 ^{bcd}	3.0017 ^{bc}
12	400	40	10	46.145 ^{ab}	1.3035 ^{fghi}	2.7522 ^{bcd}
16	800	40	0	44.262 ^{ab}	1.9469 ^{cdef}	2.2063 ^{bcde}
18	800	40	10	41.545 ^{ab}	2.7062 ^{abc}	1.4708 ^{cde}
17	800	40	5	37.415 ^{abc}	1.3450 ^{fghi}	2.4193 ^{bcde}
11	400	40	5	34.900 ^{bcd}	2.1769 ^{cde}	2.9453 ^{bc}
7	400	0	0	21.342 ^{cde}	2.0630 ^{cdef}	0.9835 ^{cde}
2	0	0	5	21.314 ^{cde}	1.8092 ^{defg}	1.7939 ^{cde}
8	400	0	5	19.356 ^{de}	1.5677 ^{defgh}	2.0794 ^{cde}
3	0	0	10	19.287 ^{de}	0.7787 ⁱ	1.1937 ^{cde}
1	0	0	0	19.222 ^{de}	1.1414 ^{ghi}	1.0560 ^{cde}
13	800	0	0	18.128 ^{de}	1.3182 ^{fghi}	2.3687 ^{bcde}
14	800	0	5	14.582 ^e	1.4754 ^{efghi}	0.9702 ^{cde}
9	400	0	10	14.251 ^e	1.4407 ^{efghi}	0.8025 ^{de}
15	800	0	10	12.477 ^e	0.9677 ^{hi}	0.4762 ^e

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, no son significativamente diferentes. Prueba de rango múltiple de medias Tukey P≤0.05.

6.8.1 Concentración de As en raíz de *Ricinus communis*

La concentración mayor se obtuvo en la raíz (Cuadro 5) lo que coincide con lo reportado por Rezwanul *et al* (2008) en su estudio de evaluación del potencial de especies de plantas nativas para la fitorremediación de áreas contaminadas con arsénico en el que indican que *R. communis* presentó concentración mayor

de este metal en la raíz (48.75 mg g^{-1}) y debido a esto la citan como una especie potencial para ser utilizada para la remoción de este contaminante.

El tratamiento 6 (0 mg·Kg de Pb, 40 de mg·Kg As ,10 g de micorrizas) produjo una acumulación mayor de As en raíz. Sin embargo, todos los tratamientos en los que se aplicó As (40 mg·kg^{-1}) muestran acumulación mayor que los tratamientos a los que no se les aplicó metal (Figura 7). Esto coincide con lo reportado por López (2009), quienes señalaron que 2 tipos de plantas (Solaneacea y Asphodelacea) presentaron la mayor absorción de As en la raíz (2.51 y 1.79 mg·kg^{-1}) respectivamente. Puga *et al* (2006) reportan, en su estudio acerca de concentraciones de As y Zn en vegetación nativa cercana a una presa de jales, que el mezquite (*Prosopis juliflora*) presentó el mismo patrón de concentración que en este estudio, los niveles de As que acumuló fueron de 20.244 en raíz, 14.277 en hoja y $11.632 \text{ mg·kg}^{-1}$ en tallo. También mencionan que el huizache (*Acacia farnesiana*) presentó concentraciones de As de 43.85 mg·kg^{-1} en la raíz y de 12.19 mg·kg^{-1} en las hojas, con la tendencia de que a medida que se aleja de los jales los valores de concentración disminuyen. Esto coincide con lo reportado por Rezwanul *et al.* (2008) quienes mencionan que *R. communis* acumula mayor cantidad de metal en sus órganos mientras la concentración de éste sea mayor en el suelo. Sin embargo, en este estudio solo se utilizó una concentración de As lo que abre la pauta aumentar las concentraciones e incrementar el número de tratamientos en estudios posteriores.

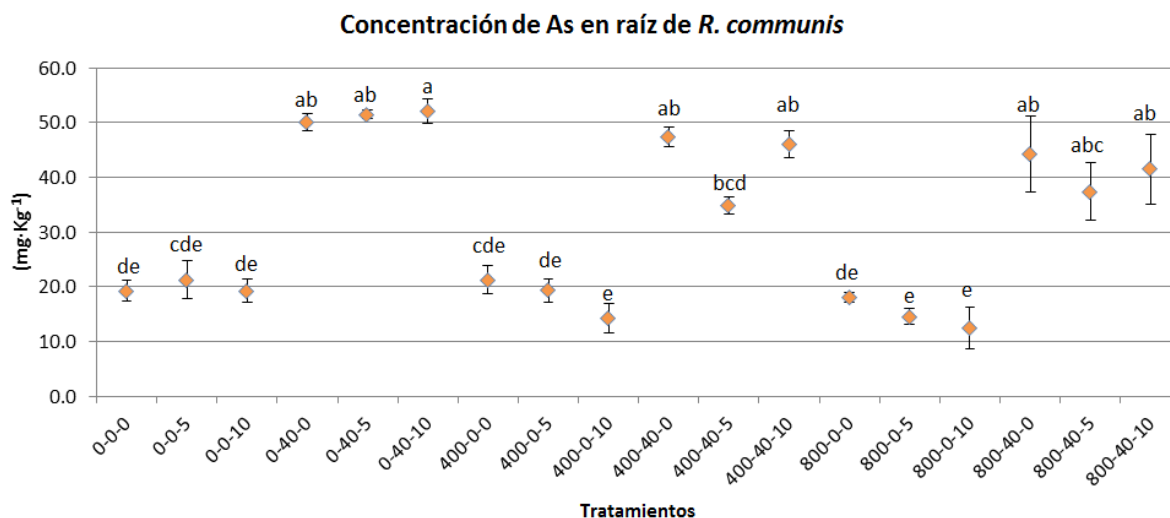


Figura 7. Concentraciones de As en raíz de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$.

6.8.2 Concentración de As en tallo de *Ricinus communis*

La tendencia de acumulación de As en este estudio fue: Raíz > Hoja > Tallo, siendo este último el órgano que menos acumulación presentó. La concentración de arsénico en tallo de *R. communis* presenta diferencias significativas entre tratamientos ($P = 0.0001$).

La acumulación máxima de arsénico en el tallo ocurrió en las plantas del tratamiento que contenía solamente 40 mg Kg⁻¹ de As, sin la adición de plomo y micorrizas y fue significativamente mayor que la acumulación detectada en plantas que crecieron en suelo al que no se le añadió Arsénico (Figura 8). Puga, *et al* (2006) reportan en su estudio que el táscale (*Juniperus deppeana*)

utilizado como poste para cercar, fue encontrado como dominante en 3 sitios de estudio y presentó valores de acumulación de As de 27.74 mg Kg^{-1} en el tallo y de 12.57 mg Kg^{-1} en las hojas, comportamiento diferente a la mayoría de las especies que estudiaron las cuales acumulan mayormente este elemento en las hojas, disminuyendo en forma importante sus concentraciones a medida que se alejan de la fuente de contaminación.

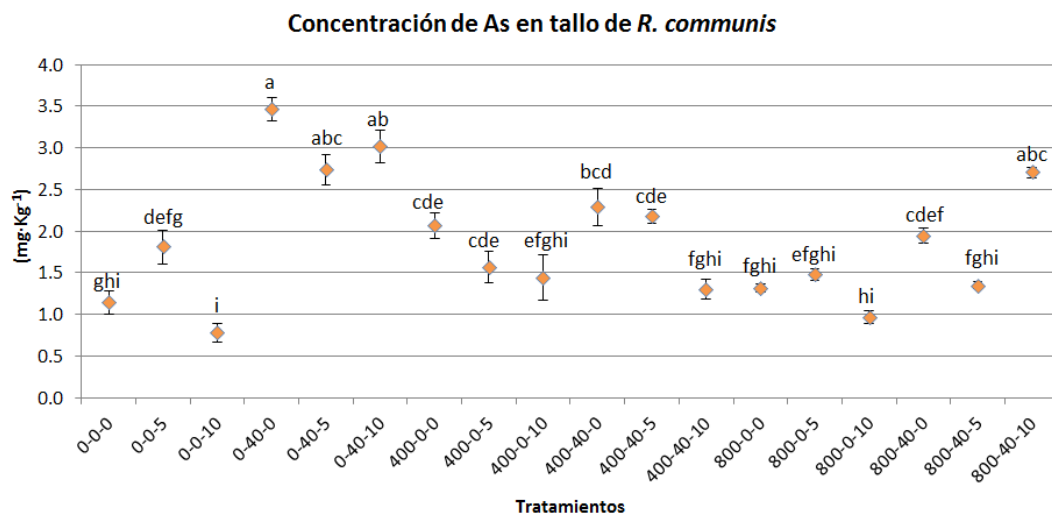


Figure 8. Concentraciones de As en raíz de *Ricinus communis*., sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$.

6.8.3 Concentración de As en hoja de *Ricinus communis*

La concentración de arsénico en hoja de *Ricinus communis* mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P= 0.0001$). En las hojas la máxima acumulación de arsénico se presentó en las plantas del tratamiento que contenía 40 mg Kg⁻¹ de As, sin la adición de plomo y micorrizas como ocurrió en tallo, además de ser también significativamente mayor que la acumulación detectada en las plantas de los tratamientos a los que no se les aplicó este metal (Figura 9). En contraste con el estudio de Puga, *et al* (2006), quienes reportan a la jarilla (*Baccharis glutinosa*), con valores promedio de 68.85 mg Kg⁻¹ de As en hojas siendo mayor acumulación en comparación con raíz y tallos. También reportan a esta especie en otro sitio de estudio con valores de 88.231 mg Kg⁻¹ de As en las hojas, este valor es considerado como muy grande. Ellos mencionan que a mayor distancia de los sitios contaminados, el nivel de As en las plantas fue menor.

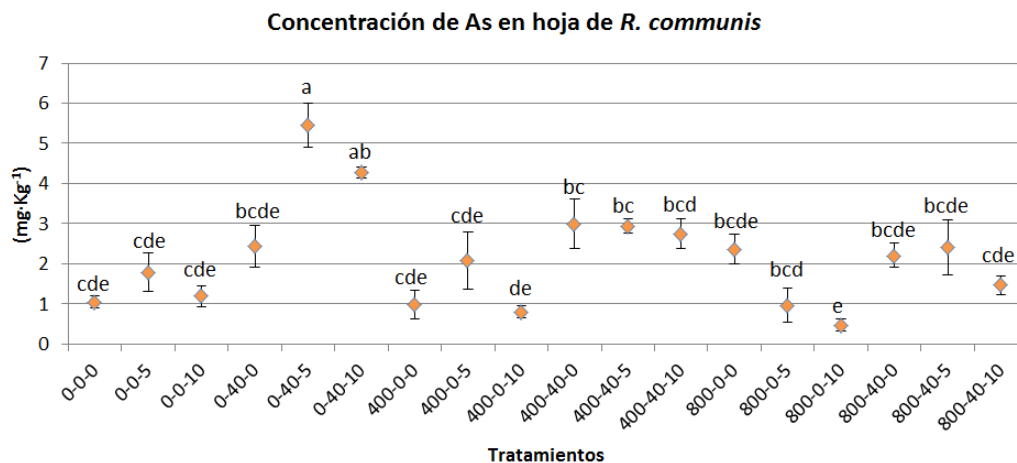


Figura 9. Concentraciones de As en raíz de *Ricinus communis* sometida a diferentes concentraciones de Pb, As y micorrizas. Las barras se definieron por media $\pm$ Error estándar; letras iguales en las barras son no significativamente diferentes, Tukey $P \leq 0.05$.

6.9 Índice de Bioacumulación de As en *Ricinus communis*

El tratamiento 5 presentó el mayor IBA. Los valores menores se presentaron en los tratamientos 17 y 11. Sin embargo todos los tratamientos en los que se aplicó la única concentración de As ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) presentan un IBA mayor a 1, lo que indica que la higuera puede emplearse en programas de fitorremediación; entonces una alternativa en la que se puede emplear esta especie puede ser la fitoestabilización (Cuadro 6).

Cuadro 6. Índice de Bioacumulación en plantas de *Ricinus communis* sometida a $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de As realizando la suma de los tres órganos evaluados contrastada con el suelo.

Tratamiento	Planta	As en suelo (mg kg^{-1})	IB (mg kg^{-1})
5	59.696	40	1.4924 ^a
6	59.448	40	1.4862 ^a
4	55.920	40	1.3980 ^{ab}
10	52.696	40	1.3174 ^{ab}
12	50.201	40	1.2550 ^{ab}
16	48.415	40	1.2103 ^{ab}
18	45.722	40	1.1430 ^{ab}
17	41.179	40	1.0294 ^{bc}
11	40.022	40	1.0005 ^{bcd}

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son no significativamente diferentes. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $P \leq 0.05$.

Las concentraciones de Pb y As en este estudio fueron mayores en las raíces, seguidas de las hojas y tallos. Alkorta *et al* (2004) definen a la fitoestabilización como el uso de plantas para inmovilizar metales pesados a través de la absorción y acumulación en las raíces o precipitación dentro de la rizósfera con el objetivo de restaurar el suelo. Baker (1981) ha denominado a este tipo de plantas que acumulan metales en las raíces como plantas exclusoras. Sin embargo, Bradshaw y Mcneilly (1985) difieren de ellos y señalan que las raíces de estas plantas presentan concentraciones grandes de metales por lo cual no existe un mecanismo de exclusión. Sin embargo, sugieren que en las raíces de estas plantas tolerantes puede existir un tipo de mecanismo que limita la circulación de metales hacia la parte aérea de la planta.

Debido a que los resultados de este estudio muestran que la higuera tiene la capacidad de concentrar metales en las raíces, posiblemente tiene potencial para ser utilizada en programas de biorremediación; así la fitoestabilización sería una opción para esta especie.

6.10 Índice de Traslocación de As en *Ricinus communis*

El índice de traslocación mayor de arsénico se puede visualizar en el tratamiento 4. Este tratamiento contenía $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de As y 5 g de micorrizas. Los valores menores se presentaron en los tratamientos que contenían valores de los tres factores, principalmente en los tratamientos con los niveles mayores (Cuadro 7). De igual manera que en el caso de plomo, el índice de traslocación de As a las hojas y tallos es pequeño; esto puede deberse a que la mayor acumulación de As se encuentra en raíz y otras porciones de la planta. Esto puede indicar un mecanismo que permite mantener bajas concentraciones pequeñas de As en la parte aérea a pesar de que las concentraciones en el suelo aumenten. Estos resultados permiten deducir que es necesario llevar a cabo estudios posteriores en los que se consideren al menos tres concentraciones de As en el suelo y al menos una de ellas mayor a la empleada en este estudio (40 mg Kg^{-1}), dado que esta no tuvo efectos dañinos sobre el funcionamiento de las plantas de higuera.

Cuadro 7. Índice de Traslocación de *Ricinus communis* sometida a 40 mg•kg⁻¹ de As. Realizado con la suma de tallos y hojas evaluados contrastada con el total de la concentración de metal en la planta.

Tratamiento	Hojas y tallo	Planta	TI %
0,40,5	8.184	59.696	13.71 ^a
0,40,10	7.295	59.448	12.27 ^{ab}
0,40,0	5.909	55.920	10.57 ^{bc}
400,40,0	5.289	52.696	10.04 ^{bcd}
400,40,5	5.122	40.022	12.80 ^{bcde}
800,40,10	4.176	45.722	9.14 ^{cdef}
800,40,0	4.153	48.415	8.58 ^{cdefg}
400,40,10	4.055	50.201	8.08 ^{cdefg}
800,40,5	3.764	41.179	9.14 ^{cdefg}

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son no significativamente diferentes. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $P \leq 0.05$.

Los resultados de este trabajo permiten concluir que *R. communis* tiene capacidad para acumular concentraciones de metales pesados principalmente en la raíz y en menor proporción en hoja y tallos. Los valores del IBA de la raíz mostraron que la higuera es un acumulador potencial de metales pesados cuando crece en suelos contaminados. Los valores de IBA para arsénico son mayores a 1. Por lo tanto, *R. communis* tiene potencial como especie útil para fitoestabilización y revegetación, ya que tiene capacidad y es candidata para ser una alternativa de recuperación de sitios con contaminados por metales pesados. Además de la estabilización de los metales pesados y revegetación existen estudios donde se determina que *R. communis* ofrece otros servicios ecológicos tales como captura de carbono , mejora la calidad del sustrato, es

estéticamente agradable al paisaje, además de ser productora de aceite potencial para biocombustibles y una especie auxiliar en la conservación de la biodiversidad.

VII. CONCLUSIONES

Las concentraciones de plomo y arsénico empleadas en este estudio no afectaron la tasa fotosintética ni el crecimiento de las plantas de higuera (*R. communis*).

La higuera tiene la capacidad de absorber plomo y arsénico en suelos contaminados y acumularlo particularmente en las raíces.

La higuera posiblemente posee mecanismos de tolerancia a metales pesados, sin que estos afecten sus procesos fisiológicos.

El índice de traslocación a hojas y tallos es muy reducido por lo que la higuera puede ser empleada en programas de fitorremediación además su índice de bioacumulación puede llegar a ser mayor de 1.

La fitoestabilización puede ser la mejor alternativa de manejo con esta especie.

VIII. LITERATURA CITADA

Alirio B., Benjumea P., Veselina P. 2007. El biodiesel de aceite de higuera (*Ricinus communis*) como combustible alternativo para motores diesel. Dyna, 74:153. Universidad Nacional de Colombia. Medellín Colombia.

Alkorta I., Hernández A., Becerril J.M., Amezcua I., Albizu I., Garbisu S. 2004. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Rev. Environmental. Sci. Biotechnology. Vol: pp 32.

Álvarez B. D. 2011. Simulación de procesos de producción de biodiesel a partir de aceites de *Jatropha* (*Jatropha curcas*) e Higuera (*Ricinus communis*). División de estudios de posgrado de la Facultad de Ingeniería Química. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Hidalgo, México.

Athanasios, K., Dyson, B., Webster, R. E., Johnson, G. N. 2010. Dynamic Acclimation of photosynthesis increases plant fitness in changing environments. Plant Physiology 152: 366-373.

Barceló, J. and Poschenrieder, C. 2003. Phytoremediation: principles and perspectives. Contributions to Science 2(3): 333-344. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.

Barton C., Marx D., Adriano D., Jun Koo B., Newman L., Blake J. 2005. Phytostabilization of landfill containing coal combustion waste. Environmental Geosciences, V. 12, No. 4. pp.

Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. Journal Plant Nutrition, 3:643-654.

Bradshaw, A. D., McNeilly, T., Gregory R. 1985. Industrialization, evolution and the development of heavy metal tolerance in plants, in *Ecology and the Industrial Society*.

Burt, R., Wilson, M.A., Keck, T.J., Dougherty, B.D., Strom, D.E. and Lindahl, J.A. 2003. Trace Element Speciation in Selected Smelter-Contaminated Soils in Anaconda and Deer Lodge Valley, Montana, USA. *Advances in Environmental Research*, 8: 51- 67.

Clark RB, Zeto SK. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biol. Bioquem.* 28: 1495- 1503.

Clemens C., Palmgren M., Kramer U. 2002. A long way ahead: Understanding and engineering plant metal accumulation. *TRENDS in plant Science* Vol. 7. No. 7.

Cordero J., Guevara M., Morales E., Lodeiros C. 2005. Efecto de metales pesados en el crecimiento de la micro-alga tropical *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae). *Revista Biología Tropical*, 53: 325-330.

Corinne P. Rooney, Fang-Jie Zhao, Steve P. McGrath. 2006. Phytotoxicity of nickel in a range of European soils: Influence of soil properties, Ni solubility and speciation, *Environmental Pollution* 145: 596-605.

Dahmani-Muller, H., van Oort, F., Gelie, B., Balabane, M (2000). Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* 109: 231-238.

Dixon R, Rao MV, Garg VK. 1994. Water relations and gas exchange of Mycorrhizal *Leucaena leucocephala* seedlings. *J. Trop. Forest. Sci.* 6: 542-532

Flores, J. S. López M, y L. A. Albert. 1995. La contaminación y sus efectos en la salud y el ambiente México, D. F., Centro de Ecología y Desarrollo.

García I. y Donorroso C. 2005. Dinámica de Metales Pesados en Suelos. En: Contaminación por Metales Pesados. Apuntes disponibles en: <http://edafología.urg.es/conta/tema15/introd>.

Gaur A, Adholeya A. (2004) Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Sci.* 86: 528–534.

González C. M. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. Universidad Autónoma Chapingo México. TERRA Latinoamericana 23:29-37.

Hall, J. L. 2002. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany, Vol. 53, No 366.

Harvey, C. F., C. H. Swartz, A. B. M. Badruzzaman, N. Keon-Blute, W. Yu, M. A. Ali, J. Jay, R. Beckie, V. Niedan, D. Brabander, P. M. Oates, K. N. Ashfaq, S. Islam, H. F. Hemond, and M. F. Ahmed. 2002. Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh. Science 298: 1602– 1606.

Hettiarachchi, G. M., Pierzynski. G. M. 2002. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: Influence of plant growth. J. Environ. Qual. 31: 564- 572.

Jarvis, M D; Leung, D W M (2002). Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an ultrastructural study. *Environmental and Experimental Botany* 48:21-32.

Jian, W., Liu, D. 2010. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. BMC Plant Biology 10: 40.

Jing Y., Z He, X Yang. 2007. Role rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Journal Zhejiang Univ. Sci. B.*, 8: 192-207.

Jonak C., Nakagami H., Hirt H. 2004. Heavy Metal Stress. Activation of Distinct Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways by Copper and Cadmium. Gregor Mendel Institute of Molecular Plant Biology, Austrian Academy of Sciences and Institute of Microbiology and Genetics, University of Vienna Plant Physiology, Vol. 136.

Koeppel, D. E 1981. Lead understanding the minimal toxicity of lead in plants. In: Effect of heavy metal pollution on plants. Vol. 1 (Effect of trace metals on plant functions). Edited by N.W. Lepp. Applied Science Publishers, London. Pp. 55-76.

Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. (1995). Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1232–1238.

Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.J. 2006. *Plant physiological ecology*. New York. Springer. p. 299-323.

Landeros, M. O., Trejo, C.R., Reveles, H.M., Valdez C.D., Arreola A.J., Ruiz, T.J. 2011. Uso potencial del huizache (*acacia farnesiana* L. Will) en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, Volumen XVII, Edición Especial: 11-20, 2011.

Laperche, V., Logan, T.J., Gaddam, P., Traina, S.J. 1997. Effect of apatite amendment on plant uptake of Pb from contaminated soil. *Environmental Science Technology*, 31:2745-2753.

Lasat M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *Journal Environ. Qual.*, 31: 109-121.

Lerda, D. 1992. The effect of lead on *Allium cepa* L. *Mutation Research*, 281:89-92.

Liu, D., Zhai, L., Jiang, W. and Wang, W. 1995. Effects of Mg_2^+ , Co_2^+ , and Hg_2^+ on the nucleus and nucleolus in the root tip cells of *Allium cepa*. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 55:779-787.

López M. G. 2002. Distribución y fitodisponibilidad de metales pesados (Sb, Hg, Hs) en los jales de la mina de antimonio de Wadley, estado de San Luis Potosí. Universidad Nacional Autónoma De México.

Martin, C.W. 2000. Heavy Metals Trends in Floodplain Sediments and Valley Fill. *Catena* 39, 53-68.

McGrath P., Zhao F., Dunham J. 2002. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist* 156: 27–31.

Mendez M., Maier R. 2008. Phytostabilization of mine Tailing in arid and semiarid environments - and emerging remediation technology. Environment Health Perspect. V 116 (3).

Miller, R J., Koeppe, D. E. (1971). Accumulation and physiological effects of lead in corn. In: Proceedings of University of Missouri, Columbia 4, pp.186-193.

Moreno M., B González., C Blanco. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados. Aplicaciones de Hongos en tratamientos de biorrecuperación. RevIberoamMicol, 2004. CIEMAT y CIB-CSIC, Madrid.

Navarro Aviñó, J.P., Aguilar Alonso, I., López-Moya, J.R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. Ecosistemas, vol. 16, núm. 2, Asociación Española de Ecología Terrestre. Alicante, España.

Olivares Sáenz E. 2012. Programa estadístico de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Versión 1.0 de PRUEBA.

Ortiz-Cano, H.G., Trejo, C.R., Valdez, R.D., Flores H, A., López A.B. 2009. Fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados usando quelite (*Amaranthus hybridus* L) y micorrizas. Revista Chapingo Serie Horticultura 15(2):161-168

Osonobi O, Bakare ON, Mulongoy K. 1992. Interactions between drought stress and vesicular arbuscular mycorrhiza on the growth of *Faidherbia albida* (syn. *Acacia albida*) and *A. nilotica* in sterile and non sterile soils. Biol. Fert. Soils 14: 159-165.

Pal, R. and Nandi, S. 1990. Cytological abnormalities induced by mercury water pollutants on *Allium cepa*. Bulletin Environmental Contamination Toxicology, 45:767-774.

Pallardy, S. 2008. Physiology of woody plants. Academic Press, Burlington, VT.

Peixoto, C. P., Peixoto, M. de F. da S. P. 2009. Dinámica do crescimento vegetal: Principios básicos. En: CARVALHO L., C. A. Tópicos en Ciencias Agrarias. Universidad Federal de Recôncavo da Bahía, Centro de Ciencias Agrarias, Ambientales y Biológicas. 1: 40-53.

Phillips J. M., D Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:158–161.

Pichtel, J; Kuroiwa, K; Sawyerr, H J. 2000. Distribution of Pb and Ba in soils and plants of two contaminated sites. *Environmental Pollution* 10:171-178.

Pichtel, J; Salt, C A .1998. Vegetative growth and trace metal accumulation on metalliferous wastes. *Journal of Environmental Quality* 27:618-624.

Pineda H. R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intraradices* en la absorción y traslocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus L.*) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis doctoral. Universidad de Colima. Colima, México.

Prieto G., F. H Callejas., J Lechuga. 2005. Acumulación en tejidos vegetales de arsénico proveniente de aguas y suelos de Zimapán, Estado de Hidalgo, México. *Bioagro*, vol.17, no.3, p.129-136. ISSN 1316-3361.

Prieto M. J., González R. C., Gutiérrez R. A., Prieto G. F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua Tropical and Subtropical Agroecosystems, vol. 10, núm. 1, pp. 29-44, Universidad Autónoma de Yucatán México.

Puga S., Sosa M., De la Mora A., Pinedo C., Jiménez J. 2006. Concentración de As y Zn en vegetación nativa cercana a una presa de jales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 22 (2) 75-82, 2006.

Rezwanul M., Inoue N., Kasajima S., Riffat S. 2008. Assessment of potential indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated areas of Bangladesh. *International Journal of Phytoremediation*, 10:119–132.

Robinson, B.H., Chiarucci, A., Brooks, R.R., Petit, D., Kirkman, J.H. and Gregg, P.E.H. 1997. The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potential agent for phytoremediation and phytomining of nickel. *Journal Geochemical Exploration*, 59, 75-86.

Rodríguez J., Rodríguez H., De Lira G., Martínez J., Lara J. 2006. Capacidad de seis especies vegetales para acumular plomo en suelos contaminados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 29, núm. 3, Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. México.

Rodríguez, S., Martínez N., Romero M., del Río L., Sandalio L. 2008. Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*. Dpto. de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín. Granada, España.

Rosendahl CN, Rosendhal S. 1991. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus spp.*) on the response of cucumber (*Cucumis sativus L.*) to salt stress. *Env. Exp. Bot.* 31: 313-318.

Rossel, J. B.; Wilson, P. B.; Hussain, D.; Woo, N.; Gordon, M. J.; Mewwet, O. P.; Howell, K. A.; WhelanN, J.; Kazan, Pogson, B. J. 2007. Systemic and intracellular responses to photooxidative stress. *The Plant Cell* 19: 4091-4110.

Sauve, S., Henderson, W. and Allen, H.E. 2000. Solid- Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. *Environmental Science Technology*, 34:1125–1131.

Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105: 1413-1421.

Sieverding E. 1983. Manual de métodos para la cuantificación de la micorriza vesículo-arbuscular. CIAT, Cali, Colombia.

Smith SE, Read DJ. (1997). Mycorrhizal Sym- biosis, 2nd ed. Academic Press Ltd., Lon- don, England.

Spain, A. 2003. Implications of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. Reviews in Undergraduate Research, 2:1-6.

Trejo, C. R., García, N. C., Valdez, R. D., Arreola, J. G. 2007. Análisis de la variación espacial de plomo en suelos del área de Bermejillo, Dgo. Memorias del Congreso de la Asociación Mexicana de Ingeniería Agrícola. Bermejillo, Dgo., México. Pp.120-129.

Vargas G. D. 2006. Efectos fisiológicos y Compartimentación en plantas de *Zea mays* L., expuestos a la toxicidad por plomo. Facultad de Ciencias, Laboratorio de Fisiología vegetal, Departamento de Biología vegetal. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

Waldemar M (2007) Signaling responses in plants to heavy metal stress. Acta Physiol Plant 29:177–187

Zhao Yang and Chengcai Chu. 2007. Towards Understanding Plant Response to Heavy Metal Stress. State Key Laboratory of Plant Genomics, National Centre for Plant Gene Research Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences China.