



UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas

**FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y FITOEXTRACCIÓN DE
PLOMO Y CADMIO CON TROMPILLO *Solanum elaeagnifolium* Cav.
EN SUELOS CONTAMINADOS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

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

**PRESENTA:
OSCAR ESQUIVEL ARRIAGA**

T E S I S

OCTUBRE DEL 2008

Bermejillo, Durango



**FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO Y
CADMIO CON TROMPILLO *Solanum eleagnifolium* Cav. EN SUELOS
CONTAMINADOS**

Tesis realizada por **Oscar Esquivel Arriaga**, 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:



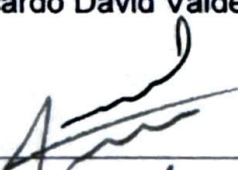
Ph. D. Ricardo Trejo Calzada

Asesor



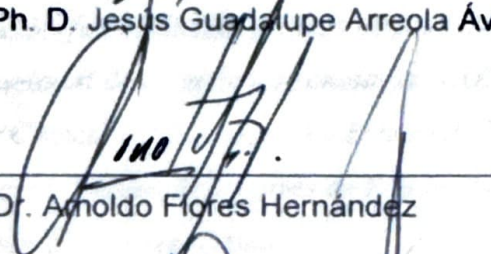
Dr. Ricardo David Valdez Cepeda

Asesor:



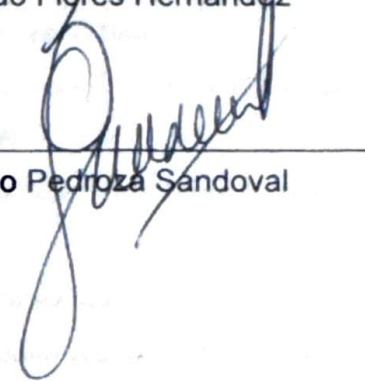
Ph. D. Jesús Guadalupe Arreola Ávila

Asesor:



Dr. Arnolfo Flores Hernández

Asesor:



Dr. Aurelio Pedroza Sandoval

Esta investigación fue realizada gracias al financiamiento otorgado a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCyTED) por su apoyo financiero a través de Fondos Mixtos CONACYT-DURANGO, para llevar a cabo este estudio

Al Programa Universitario de Investigación y Servicio en Recursos Bióticos de Zonas Áridas (REBIZA) de la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo financiero y de infraestructura para la realización de esta investigación.

A la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo por las facilidades para realizar mis estudios de maestría y la presente investigación

DEDICATORIA

*Con profundo agradecimiento respeto, admiración y el amor a mis padres
Mauro Esquivel López y Maria Isabel Arriaga Zaragoza, por todo ese apoyo,
cariño y comprensión incondicional en todo momento.*

*A mis hermanos Gerardo y Eleazar por su apoyo y cariño que me han
brindado durante mi preparación profesional.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo en especial a la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas quien me dio la oportunidad de culminar una nueva meta profesional.

Al Ph. D. Ricardo Trejo Calzada, por su asesoría, orientación y un incondicional apoyo en la planeación y desarrollo de este trabajo y quien ha contribuido en mi crecimiento profesional, y sin lugar a dudas un excelente profesor pero sobre todo un excelente amigo.

Al Ph. D. Jesús Guadalupe Arreola Ávila, Dr. Ricardo Valdez Cepeda, por su asesoría, orientación e importantes observaciones en este trabajo de investigación.

Un agradecimiento muy especial Margarita y a toda su familia Ávila Ramírez, por su valioso apoyo brindado y su amistad brindada, infinitamente gracias a todos.

A mis dos nuevos amigos los MC. Julián Cerano Paredes y MC. Heriberto Carballo Martínez, por su apoyo durante el posgrado y sobre todo su amistad.

A la familia Meza Carlos quienes me brindan su amistad y mi estancia durante mi formación y por el apoyo brindado incondicionalmente, muchas gracias.

A todos mis amigos el Ing, Gerardo E., Ing. Germán A., Ing. Emiliano A., Ing. Ruben B., Ing. Carlos B., MC. José Manuel C. por el apoyo brindado y la facilidad que me brindaron al convivir y brindarles mi amistad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Índice de figuras.....	viii
Índice de cuadros.....	x
Resumen.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo general.....	5
2.2 Objetivos específicos.....	5
III. HIPÓTESIS.....	5
IV. REVISION DE LITERATURA.....	6
4.1. Metales pesados.....	6
4.2. Recursos naturales e impacto ambiental.....	7
4.3. Principales fuentes de contaminación.....	10
4.4. Elementos potencialmente tóxicos.....	11
4.5. Plomo (Pb).....	12
4.6. Cadmio (Cd).....	14
4.7. Tecnologías de remediación para suelos contaminados por EPT.....	16
4.7.1. Factores que inciden en los procesos de remediación.....	17
4.7.1.1. Factores ambientales.....	18
4.7.1.2. Características de los contaminantes.....	19
4.7.1.3. Factores microbiológicos.....	21
4.8. Biorremediación.....	21
4.8.1. Clasificación de tecnologías de remediación.....	23
4.8.1.1. Tecnologías tradicionales.....	23
4.8.1.2. Tecnologías innovadoras.....	23
4.8.1.3. Alteración de propiedades del contaminante.....	24
4.8.1.4. Inmovilización o separación.....	24
4.8.1.5. Movilización o disolución.....	25

4.8.1.6. Biosorción (inmovilización microbiana de metales).....	26
4.8.2. Fitorremediación.....	27
4.8.2.1. Fito-extracción o fito-acumulación.....	31
4.8.2.2. Fitoestabilización.....	32
4.8.2.3. Fitovolatilización.....	33
4.8.3. Fito-extracción de metales.....	33
4.8.4. Fitoextracción asistida por quelantes.....	35
4.8.5. Fitoextracción continua de largo plazo.....	37
4.8.6. Factores y consideraciones que inciden en la fitorremediación.....	38
4.8.7. Plantas con potencial de fitoextracción de metales pesados.....	39
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
5.1. Localización geográfica.....	48
5.2. Clima.....	49
5.3. Desarrollo del estudio.....	49
5.4 Colecta y siembra de semilla.....	50
5.5. Colecta y análisis de la muestra de suelo.....	51
5.5.1. Análisis de metales pesados de la muestras de suelo.....	52
5.5.1.1. Análisis de plomo total.....	53
5.5.1.2 Análisis de cadmio total.....	53
5.6. Diseño experimental.....	54
5.7. Colecta de muestras vegetal.....	55
5.8. Variables evaluadas en material vegetal.....	56
5.9. Preparación de muestras vegetales para análisis de Pb y Cd.....	56
5.10. Medición de tasa fotosintética.....	57
5.11. Análisis estadístico.....	57
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
6.1. Análisis de vegetación in situ.	58
6.2. Germinación de semilla.....	61
6.3. Análisis de suelo.....	62
6.4. Pb total y Cd total en el sustrato.....	64
6.5. Tasa fotosintética de trompillo.....	64
6.6. Materia seca en raíz.....	69
6.7. Materia seca en tallo.....	71

6.8. Materia seca en hoja.....	72
6.9. Materia seca en planta total.....	74
6.10. Comportamiento de MS en los órganos de la planta trompillo.....	76
6.11. Pb en raíz de trompillo.....	78
6.12. Pb en tallo de trompillo.....	79
6.13. Pb en hoja de trompillo.....	81
6.14. Pb en planta total.....	82
6.15. Comportamiento de plomo en los órganos de la planta trompillo...	84
6.16. Cd en raíz de trompillo.....	88
6.17. Cd en tallo de trompillo.....	89
6.18. Cd en hoja de trompillo.....	90
6.19. Cd en planta total de trompillo.....	92
6.20. Comportamiento de cadmio en los órganos de la planta trompillo.	92
6.21. Análisis de componentes principales.....	93
VIII. CONCLUSIONES	97
VIII. RECOMENDACIONES	98
VIII. LITERATURA CITADA.....	99
IX. APENDICE A.....	106

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Factores que inciden en la remediación de un suelo.....	17
Figura 2. Descontaminación de iones metálicos en un proceso natural de fitorremediación.....	32
Figura 3. Proceso general de fito-extracción.....	34
Figura 4. Localización Geográfica del Municipio de Mapimí, Durango.....	48
Figura 5. Desarrollo de la plántula de trompillo <i>Solanum elaeagnifolium</i>	50
Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología para determinar extraer plomo (Pb) y cadmio (Cd) total en suelo.....	53
Figura 7. Puntos verdes sitios de muestreo de material vegetal en las diferentes isolíneas de distribución de concentraciones de plomo en Bermejillo, Dgo, tomado de trabajo previo de García <i>et al</i> ; 2006.....	59
Figura 8. Ciclo fenológico de trompillo <i>Solanum elaeagnifolium</i>	61
Figura 9. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la fotosíntesis del trompillo	66
Figura 10. Principales factores y su efecto en la interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150, 200 ppm) y Concentración del Metal pesado (10 ppm de Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm de Cd) en la fotosíntesis del trompillo.....	66
Figura 11A y 11B. Transformación de los datos observados de fotosíntesis a residuales. A. Tendencia lineal positiva con una prueba de normalidad de los residuales. B. Modelo ajustado a cero en un modelo lineal, en la que se observa una buena distribución de los datos.....	67
Figura 12. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en órgano raíz en trompillo.	70
Figura 13. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en órgano tallo en trompillo.....	72
Figura 14. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en órgano hoja en trompillo.....	74
Figura 15. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en planta de trompillo.....	76
Figura 16. Producción de materia seca en órganos de la planta de trompillo.....	77
Figura 17. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en raíz de trompillo.....	79
Figura 18. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de	

Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en tallo de trompillo.....	80
Figura 19. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en hoja de trompillo.....	82
Figura 20. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en planta de trompillo.....	84
Figura 21. Acumulación de Pb en órganos de la planta trompillo.....	85
Figura 22. Planta de trompillo con efecto de estrés.....	87
Figura 23. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Cd en raíz de trompillo.....	89
Figura 24. Efecto de interacción entre la Dosis de N y Concentración del Metal pesado en la acumulación de Cd en tallo de trompillo.....	90
Figura 25. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Cd en hoja de trompillo.....	91
Figura 26. Acumulación de Cd en órganos de la planta trompillo.....	93

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones de Pb en <i>Solanum elaeagnifolium in situ</i>.....	59
Cuadro 2. Concentraciones de Cd en diferentes órganos de <i>Solanum elaeagnifolium in situ</i>.....	61
Cuadro 3. Resultado del análisis físico-químico del suelo empleado en el experimento.....	63
Cuadro 4. Medias de tasa fotosintética de plantas de trompillo crecidas en diferentes concentraciones de nitrógeno.....	65
Cuadro 5. Medias de tasas fotosintéticas de plantas de trompillo crecidas en diferentes concentraciones de metales pesados.....	65
Cuadro 6. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la producción de MS en el órgano raíz.....	69
Cuadro 7. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la producción de MS en el órgano tallo.....	71
Cuadro 8. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la producción de MS en el órgano tallo	72
Cuadro 9. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la Acumulación de MS en el órgano hoja.....	73
Cuadro 10. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de MS en el órgano hoja.....	74
Cuadro 11. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la Acumulación de MS en planta total.....	75
Cuadro 12. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la acumulación de MS en planta total.....	75
Cuadro 13. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la acumulación de Pb en el órgano tallo de trompillo.....	80
Cuadro 14. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de Pb en el órgano hoja.....	82
Cuadro 15. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de Pb en el órgano hoja.....	83
Cuadro 16. Valores propios y varianzas asociados a 4 componentes principales.....	94
Cuadro 17. Coeficientes de correlación entre las variables y los 4 componentes principales.....	96

EVALUACIÓN DE TROMPILLO *Solanum elaeagnifolium* Cav. EN LA FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN SUELOS CONTAMINADOS

RESUMEN

La contaminación por metales pesados en aire y suelos es uno de los problemas más serios de contaminación ambiental. En la Región Lagunera de México se han detectado áreas contaminadas con metales pesados que repercuten en un problema serio en la salud humana. Particularmente, se han detectado altas concentraciones de plomo en las inmediaciones de plantas metalúrgicas de Torreón, Coahuila y Bermejillo, Durango. La fitorremediación es una de las alternativas que se han manejado para extraer, contener, degradar o inmovilizar contaminantes del suelo. Sin embargo, no hay muchos estudios sobre el empleo de plantas adaptadas a las zonas áridas para el establecimiento de programas de fitorremediación de suelos de manera sustentable. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad del trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) de extraer plomo y cadmio de suelos contaminados al adicionar una fertilización nitrogenada. El trabajo se llevó a cabo en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH) en Bermejillo, Dgo. Se estableció un experimento con un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones. Se emplearon cinco concentraciones de nitrógeno (0, 50, 100, 150, 200 ppm), tres variantes de contaminación de metales pesados (500ppm de Pb, 10ppm de Cd, 500ppm de Pb +10ppm de Cd). Se determinó la concentración de plomo y cadmio en hoja, tallo, raíz y fruto mediante espectrofotometría de absorción atómica a los 110 días después de la aplicación de los tratamientos. La concentración de plomo y cadmio en los tejidos de la planta fue relativamente baja en un rango de 3.8 a 6.4ppm en tanto la concentración de cadmio tuvo una media en el rango de 0.21 a 0.32ppm. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la capacidad extractora de plomo y cadmio por efecto de la fertilización nitrogenada.

Palabras clave: contaminación, metales pesados, fitorremediación, *Solanum elaeagnifolium*.

EVALUATION OF TROMPILLO (*Solanum elaeagnifolium* Cav.) IN THE FITOEXTRACTION OF LEAD AND CADMIUM IN CONTAMINATED SOIL

SUMMARY

Heavy metal contamination of soil and air is one of the most serious pollution problems. In the Lagunera region, three areas have been detected with a high content of heavy metals, posing a serious risk to human health. In particular, high concentrations of lead have been detected around smelting plants in Torreón, Coahuila and Bermejillo, Durango. Phytoremediation is one of several alternatives that have been used to extract, contain, degrade or immobilize heavy metal soil contaminants. However, there are insufficient studies about using plants adapted to arid areas for the establishment of sustainable phytoremediation soil programs. The aim of this study was to evaluate the capability of trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) to extract lead and cadmium from soils contaminated. The study was carried out at the Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas of the Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH), located in Bermejillo, Durango. An experiment was set up using a randomized block experimental design with four replications. The treatments were the resulting combination of five nitrogen concentrations (0, 50, 100, 150, 200 ppm) and three contaminants (500ppm de Pb, 10ppm de Cd, 500ppm de Pb +10ppm de Cd). The concentration of lead and cadmium was determined by atomic spectrophotometry in leaves, stems and roots 110 days after the treatment applications. The concentration of lead and cadmium in the plant tissues was relatively low, ranging from 3.8 to 6.4 ppm, while the mean for cadmium accumulation was 0.21 to 0.32 ppm. No significant differences were found among the treatments regarding the ability to extract lead and cadmium resulting from nitrogen fertilization.

Key words: contamination, heavy metals, phytoremediation, *Solanum elaeagnifolium*

I. INTRODUCCIÓN.

Los recursos naturales son una parte del patrimonio de la humanidad; y conforman el entorno donde el hombre realiza sus actividades y representan la fuente natural de gran cantidad de satisfactores como son los alimentos, energía, protección, entre otros. En México, los recursos naturales presentan una gran variabilidad de condiciones ambientales, propiciando un desarrollo de distintas formas de producción, que han contribuido significativamente al deterioro ambiental (Licona *et al.*, 1994). Cuando un ecosistema es rebasado en su capacidad natural por reducir o absorber el impacto del exceso de energía, calor, residuos sólidos ó líquidos, en la explotación de los recursos naturales o transformación del medio para creación de infraestructura, entonces aparece un factor de daño al que se le denomina contaminación o deterioro ambiental. La contaminación es un cambio no deseado en las características físicas, químicas o biológicas del entorno natural.

La contaminación por metales pesados en los suelos es uno de los problemas más serios de contaminación ambiental, ya que pueden ser absorbidos por las plantas y parte de ellos traslocados a los animales y a las personas en la cadena alimenticia provocando toxicidad (Sauerbeck, 1982). Un incremento significativo de plomo contenido en suelos cultivados han sido observado, cerca de las áreas industriales y esto ocurre en muchos sitios alrededor del mundo (Sharma y Shanker-Dubey, 2005). Hay evidencia que el plomo (Pb) y el cadmio (Cd) han sido causa de efectos en la salud humana, en los animales y el disturbio de ecosistemas naturales (Valdez-Cepeda *et al.*, 2006). Hay una compañía metalúrgica que es la única fundidora primaria y refinadora de plomo en México; es la procesadora de plomo más grande

en América Latina y la cuarta del mundo por su volumen de producción; también es la productora de plata más importante del mundo. Esta empresa se estableció en 1901 en Torreón, pero en 1973 se instaló una planta electrolítica de zinc y en 1975 se añadió la refinería de plomo y plata. Finalmente se agregó la planta de Bermejillo, del Municipio de Mapimí, Durango, donde se produce óxido de zinc, polvo de zinc, sulfato de cobre y óxido de antimonio. Esta última recibe su materia prima de Torreón. Conformándose uno de los complejos metalúrgicos no-ferrosos más importantes en Torreón (Valdez y Cabrera 1999, Albert, 2004).

Estudios recientes revelan altas concentraciones de plomo en suelo y plantas en áreas aledañas a la planta fundidora Met-Mex Peñoles en Bermejillo, Dgo. (Trejo *et al.*, 2007), representando un alto riesgo para la población de toda la zona urbana dado que el polvo contaminado se esparce fácilmente por el viento. La exposición al plomo, aún a niveles bajos, afecta a niños y a adultos. En cantidades muy pequeñas, el plomo interfiere en el desarrollo del sistema neurológico, causando crecimiento retardado y problemas digestivos. En casos extremos causa convulsiones, colapsos e incluso la muerte. La exposición a cantidades sumamente pequeñas de plomo puede causar a largo plazo daños medibles e irreversibles en niños aún cuando éstos no muestren síntomas particulares. Se ha encontrado que una concentración de 7 microgramos de plomo por decilitro de sangre ($\mu\text{g/dL}$) causa daños irreversibles en el sistema neurológico de los infantes (Valdez y Cabrera, 1999). El límite máximo permisible de plomo en la sangre de un niño según la Norma Oficial Mexicana promulgada en junio de 1999, es de $10 \mu\text{g/dL}$. Por lo tanto, es importante resaltar que este nivel no es seguro, ni es normal, ni es deseable (Salud ambiental, 1999).

Indudablemente son necesarias medidas que eviten o reduzcan la presencia de plomo en suelo y por lo tanto reduzcan los riesgos para la salud de los habitantes de

la comunidad. Una de las alternativas es la fitorremediación. Sin embargo, los ecosistemas desérticos son frágiles y delicados, y la introducción de especies de plantas no adaptadas a este tipo de ambientes con fines de fitorremediación en suelos con metales pesados, puede ser perjudicial para estos ecosistemas, al haber un desplazamiento de la especie introducida por la especie autóctona. Por ello, nuevos métodos de remediación necesitan ser investigados, utilizando plantas nativas del desierto como un método alternativo (Sias *et al.*, 1998). En estudios previos se identificaron cinco especies nativas de la región de Bermejillo, Dgo., que acumularon altas concentraciones de plomo en los tejidos, que potencialmente pueden funcionar en la fitorremediación de estos suelos (Trejo *et al.*, 2007). El uso de plantas como alternativa para la extracción de metales pesados como el plomo (Pb), cadmio (Cd) y arsénico(As), puede ser complementada con medidas de manejo agronómico para hacer más eficiente el proceso (Cunningham y Ow, 1996).

El uso de fertilizantes es una práctica común cuando se aplica la técnica de la fitorremediación en suelo contaminados con metales pesados. Los fertilizantes orgánicos e inorgánicos son considerados como aditivos al suelo que proveen nutrientes necesarios para obtener altos rendimientos en plantas y para acidificar al suelo para la mayor biodisponibilidad de metales (Lasat *et al.*, 2000).

A pesar de que se han llevado a cabo un gran número de estudios para identificar los efectos de los metales pesados en plantas cultivadas y en algunas especies consideradas como hiperacumuladoras, pocos esfuerzos se han dedicado a la evaluación de los efectos de los metales pesados en poblaciones vegetales nativas y sus efectos colaterales en el ecosistema y la diversidad genética y biológica. En este estudio se usó el trompillo (*Solanum elaeagnifolium*), planta adaptada a las zonas áridas, para la fitoextracción de plomo y cadmio en suelos contaminados.

II. OBJETIVOS.

2.1 Objetivo general:

Contribuir con una estrategia de manejo integral, que disminuya los niveles de plomo y cadmio en suelos mediante fitorremediación con el uso de vegetación nativa.

2.2 Objetivos específicos:

Identificar la eficacia de trompillo *Solanum elaeagnifolium* en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo y cadmio.

Evaluar la capacidad del trompillo *Solanum elaeagnifolium* para extraer plomo y cadmio en suelo contaminado al adicionar fertilizantes nitrogenados.

III. HIPÓTESIS.

El trompillo no tiene la capacidad para extraer plomo y cadmio del suelo, ya que se ve afectado seriamente su metabolismo independientemente de que se fertilice o no con nitrógeno.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA.

4.1. Metales pesados.

El término de metal pesado se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una alta densidad relativa ya sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas.

Los ejemplos de metales pesados incluyen mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl) y plomo (Pb) que son componentes naturales de la corteza terrestre, y que no pueden ser degradados o destruidos (Lenntech, 2005).

Los metales pesados, son convencionalmente definidos como elementos con propiedades metálicas (conductibilidad, ductilidad, etc.), número atómico mayor de 20, y cuya densidad es mayor a los 5 g cm^{-3} . Se consideran metales pesados el cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), zinc (Zn), cobre (Cu), plata (Ag) y arsénico (As). Estos elementos constituyen un grupo de gran importancia, ya que, pese a que son esenciales para las células, en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, como humanos, organismos del suelo, plantas y animales (Spain *et al.*, 2003; Liao *et al.*, 2003).

El plomo es uno de los más importantes contaminantes del medio ambiente, porque es insoluble en suelos con pH alcalino y donde dominan arcillas de tipo illítico (García y Dorronsoro, 2004). Ciertos metales funcionan como “venenos” metabólicos, ya que pueden reaccionar e inhibir una serie de sistemas enzimáticos; algunos iones de estos elementos (Hg^{2+} , Cd^{2+} y Ag^{+}) forman complejos tóxicos inespecíficos en la célula, lo que produce efectos tóxicos para cualquier función biológica. Elementos como el Hg, As, Sn, Tl y Pb, pueden formar iones organometálicos liposolubles capaces de penetrar membranas y acumularse en las células.

Aun, elementos sin propiedades tóxicas en baja concentración, como Zn^{2+} o Ni^{2+} y especialmente Cu^{2+} , son tóxicos en concentraciones mayores (Nies, 1999, Csuros y Csuros, 2002).

En relación con lo anterior, cationes tri- o tetra-valentes de otros metales (Sn, Ce, Ga, Zr y Th), debido a su baja solubilidad, no poseen influencia biológica. Del resto de los metales, el Fe, Mo y Mn son elementos traza importantes con baja toxicidad; el Zn, Ni, Cu, V, Co, W y Cr son tóxicos con importancia biológica moderada; y elementos como As, Ag, Sb, Cd, Hg, Pb y U, no tienen importancia biológica significativa como elementos traza y se consideran tóxicos (Nies, 1999).

4.2. Recursos naturales e impacto ambiental.

Los recursos naturales constituyen una parte general del patrimonio de la humanidad; ellos conforman el entorno donde el hombre desarrolla sus actividades y representan la fuente natural de gran cantidad de satisfactores como son los alimentos, energía, protección, entre otros (Licona *et al.*, 1994).

Los recursos naturales en México, manifestados en una gran variabilidad de condiciones ambientales, aunados a la diferenciación regional de los procesos económicos y sociales, han propiciado el desarrollo de distintas formas de producción agropecuario y forestal que, han contribuido significativamente al deterioro ambiental (Licona *et al.*, 1994).

El impacto ambiental se puede definir como “la modificación del ambiente ocasionada por la acción del hombre o de la naturaleza”. De tal manera que la evaluación del impacto ambiental, es una actividad dirigida a identificar, predecir y

comunicar la información acerca del impacto de las acciones sobre la productividad del ecosistema y la calidad del nivel de vida (Zárate, 1994).

Cuando un ecosistema es rebasado en su capacidad natural por reducir o absorber el impacto del exceso de energía, calor, residuos sólidos o líquidos, explotación de los recursos naturales o transformación del medio para crear una obra (represa, planta industrial, confinamiento, desarrollo urbano), entonces aparece un factor de daño al que se le denomina "contaminación" o deterioro ambiental. Contaminación es un cambio no deseado en las características físicas, químicas o biológicas del entorno natural.

Hay dos tipos de contaminación: 1) De origen humano: Generada por las actividades del hombre, p.e.: desarrollo urbano, desarrollo industrial, tala de bosques, construcción de represas, extracción de agua, generación de basuras, etc. 2) De origen natural: Producida por procesos naturales, a saber: erupciones volcánicas, incendios forestales, terremotos.

Si se entiende el desarrollo del país como el proceso de interacción entre la naturaleza y la sociedad, se desprende que el medio ambiente es, al mismo tiempo, resultante del proceso de desarrollo y prerequisite para que este tenga lugar. Es por ello que las causas de los problemas ambientales se asocian con los diferentes estilos sin aprovechar y usar los recursos.

Desde tiempos remotos, los seres humanos han utilizado recursos líticos (rocas y minerales) para su desarrollo. Actualmente, el desarrollo de nuevas tecnologías de toda índole depende de elementos que se obtienen por actividades minerometalúrgicas o reciclaje de otros materiales, como el hierro (Fe), cobre (Cu), cadmio (Cd), oro (Au), plomo (Pb), plata (Ag) y otros elementos como el silicio (Si) (Gocht *et al.*, 1988 citado por Volke *et al.*, 2005).

La excavación de minas, la remoción de minerales y el proceso y la extracción de metales puede causar daños ambientales y, en casos extremos, destruir el ecosistema; por ejemplo, se pueden dañar tierras de cultivo, favorecer la erosión y contaminar cuerpos de agua con sales solubles de elementos potencialmente tóxicos (EPT), como arsénico (As), selenio (Se), plomo (Pb), cadmio (Cd) y óxidos de azufre (S), entre otros (Volke *et al.*, 2005).

Las industrias especializadas en el proceso de metales (siderurgias y metalúrgicas) pueden emitir partículas de dimensiones micrométricas, que son fácilmente transportables por el viento a grandes distancias y causar problemas en la salud de poblaciones (Csuros y Csuros, 2002; Volke *et al.*, 2005).

La adversidad ambiental al exponerse a la contaminación ambiental por Cd, Pb y Zn, de sitios contaminantes repercuten en la salud humana, fitotoxicidad, contaminación de agua y suelo, erosión del suelo, ecotoxicidad (Adriano *et al.*, 1997, Pierzynski, 1997 citados por Basta *et al.*, 2001).

En los últimos años, en varios países del mundo, se ha iniciado una nueva cruzada en la investigación y aplicación de nuevas alternativas que coadyuven como herramientas para prevenir ó restaurar los daños ocasionados por acciones antropogénicas ó desastres naturales que dañan de manera severa nuestro ambiente. Una de ellas es la bioremediación, entendida como el uso de organismos vivos (plantas y microorganismos) para contrarrestar los efectos nocivos causados por desastres naturales u ocasionados intencionalmente (Hernández y Martínez, 2006).

4.3. Principales fuentes de contaminación.

El enriquecimiento de minerales consiste en su separación de la ganga terrosa¹ que los acompaña. Los procesos para su recuperación se dividen en pirometalurgia (proceso en seco y a través de calor) e hidrometalurgia (proceso húmedo). Los primeros, incluyen operaciones como calcinación, tostación, fusión, volatilización, electrólisis ígnea y metalotermia; mientras los procesos hidrometalúrgicos abarcan operaciones como lixiviación, purificación y/o concentración y flotación/precipitación. La flotación de minerales es el principal proceso para su concentración y busca enriquecer las especies minerales útiles de una mena mediante la eliminación de las especies o materiales sin valor (Salager, 1992 citado por Volke *et al.*, 2005).

Sin embargo ningún proceso de concentración se logra una recuperación de 100%, los desechos mineros (colas o jales) siempre contienen residuos del mineral, muchas empresas descartan sus desechos en ríos o los depositan en grandes pilas. La composición de estos residuos puede ser muy diversa en su naturaleza química y mineralógica (Sánchez, 1995).

El impacto de la minería sobre el ambiente y la salud se relaciona con la composición del mineral, el tipo de explotación, el proceso de beneficio, la escala de las operaciones y las características del entorno. La composición de los residuos puede variar de acuerdo con las condiciones particulares de cada mina (Gutiérrez, 2003).

El impacto ambiental de los contaminantes metálicos en suelos y sedimentos es estrictamente dependiente de la capacidad de complejamiento de éstos con componentes del medio ambiente y su respuesta a las condiciones fisicoquímicas y biológicas de su entorno (McHarry, 2005). El Pb al ser menos soluble que otros

metales se retiene en una mayor cantidad en los suelos, los suelos carbonatados son los que retienen en mayor proporción este elemento (casi 100%), los suelos ácidos retienen poco Pb.

El Pb proviene de fuentes naturales y antropogénicas. Puede ingresar al organismo por el agua, alimentos, tierra y polvillo desprendido de viejas pinturas conteniendo plomo. Es maleable, dúctil y se le puede dar forma con facilidad. Asimismo, es uno de los metales no ferrosos que más se recicla (Schinitman, 2005).

4.4. Elementos potencialmente tóxicos.

El término metal pesado es usado comúnmente en materia de contaminación ambiental, su uso en éste y otros contextos han causado confusión. Una de las definiciones más comunes se aplica a metales con una densidad (gravedad específica) mayor a 5 g cm^{-3} . Sin embargo, dentro de esta clasificación también caen elementos (no metales) con propiedades químicas muy diferentes, además de que la gravedad específica no es significativa en cuanto a la reactividad, toxicidad o ecotoxicidad de un metal.

El término también se ha definido con base en otras propiedades fisicoquímicas (peso y número atómico, reacción con otros elementos) y toxicológicas, por lo que resulta inconsistente. Otra clasificación más aceptada, se basa en la acidez de Lewis y se enfoca en las propiedades químicas de los metales, de manera que los metales pesados se clasifican como elementos de clase A (duros), clase B (suaves) y de frontera (Duffus, 2001).

En el hombre se incorporan los metales en un grado pequeño al cuerpo a través del alimento, agua potable y aire, ya que poseen una gran capacidad para unirse con

diversos tipos de moléculas orgánicas, el mercurio, plomo y cadmio se encuentran entre los metales más prevalentes en el medio ambiente. Sin embargo, en concentraciones más altas pueden conducir al envenenamiento. Son peligrosos porque tienden a bioacumularse, lo cual consiste en un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo biológico en un cierto plazo, comparada a la concentración del producto químico en el ambiente (Lenntech, 2005).

4.5. Plomo (Pb).

Se ubica en el grupo IVA (metales) en la tabla periódica. El Pb es un metal gris azulino, suave y maleable, usado en varios procesos industriales (Valdés y Cabrera, 1999), que se presenta en forma natural y en pequeñas cantidades (0.002%) en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos.

Este elemento, es generalmente obtenido de la galena (PbS), la anglesita (PbSO₄) y la curocita (PbCO₃). Cuando el plomo es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos en general y para los humanos en particular (Valdés y Cabrera, 1999).

El uso más amplio del Pb elemental es para la fabricación de acumuladores; este elemento también es usado para la fabricación de tetra-etilo de plomo (Valdés y Cabrera, 1999), pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldadura suave y municiones (Lide, 1997 citado por Volke *et al.*, 2005; Csuros y Csuros, 2002; ATSDR, 2005).

Las principales fuentes de contaminación por Pb incluyen la fundición, el procesamiento y producción secundaria de metales, la manufactura de baterías de plomo y la de pigmentos y químicos; la contaminación atmosférica por el uso del Pb

en gasolinas también ha sido de importancia. Las fuentes de contaminación principalmente de Pb en suelos pueden ser clasificadas en tres amplias categorías: la actividad industrial tal como minas y procesos metalúrgicos, actividades agrícolas tal como la aplicación de insecticida y las actividades urbanas como el uso de pinturas, gasolinas, actividades militares entre otros materiales (Fendorf *et al.*, 2004).

El plomo no es biodegradable y persiste en el suelo, en el aire, en el agua y en los hogares. Nunca desaparece sino que se acumula en los sitios en los que se deposita y puede llegar a envenenar a generaciones de niños y adultos a menos que sea retirado (Valdés y Cabrera, 1999).

El Pb es tóxico para el sistema nervioso y se asocia con la depresión de muchas funciones endocrinas, aunque no hay evidencia de efectos teratogénicos o carcinogénicos. Se sospecha que es tóxico para los sistemas cardiovascular, respiratorio, inmunológico, neurológico, y gastrointestinal además de poder afectar la piel y los riñones.

La exposición al plomo, aún a niveles bajos, afecta a niños y a adultos. En cantidades muy pequeñas, el plomo interfiere con el desarrollo del sistema neurológico, causa crecimiento retardado y problemas digestivos. En casos extremos causa convulsiones, colapsos e incluso la muerte. La exposición a cantidades sumamente pequeñas de plomo puede causar a largo plazo daños medibles e irreversibles en niños aún cuando éstos no muestren síntomas particulares. Se ha encontrado que una concentración de 7 microgramos de plomo por decilitro de sangre ($\mu\text{g dL}^{-1}$) causa daños irreversibles en el sistema neurológico de los infantes (Rosen, 1992, Valdés y Cabrera, 1999).

El límite máximo permisible de plomo en la sangre de un niño según la Norma Oficial Mexicana promulgada en junio de 1999, es de $10 \mu\text{g dL}^{-1}$. Sin embargo, es

importante resaltar que este nivel no es seguro ni es normal, ni es deseable (Salud ambiental, 1999).

Muchas investigaciones han sido conducidas sobre la remediación de suelos contaminados con Pb, empleando tratamientos físicos, químicos y biológicos y un progreso significativo ha sido realizado (Holden, 1989 citado por Shen *et al.*, 2002).

La mayor parte del Pb liberado en el ambiente es retenido por el suelo; los principales procesos que dictan su destino en éste incluyen la adsorción, el intercambio iónico, la precipitación y el acomplejamiento con materia orgánica. El tetra-metilo de plomo (compuesto relativamente volátil) puede formarse en sedimentos como resultado de su alquilación microbiana. Como contaminante ambiental, normalmente se encuentra en forma elemental, como óxidos e hidróxidos y como complejos oxianiónicos metálicos. El Pb tiene valencias $+2$ y $+4$, de las cuales el Pb (II) es la forma más común y reactiva. Cuando forma complejos con ligandos orgánicos (ácidos húmicos y fúlvicos) o inorgánicos (Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}), se forman compuestos poco solubles; el carbonato de plomo, formado a pH menor a 6, y el PbS son las formas sólidas más estables del plomo (Lide, 1997 citado por Volke *et al.*, 2005; Evanko y Dzombak, 1997).

4.6. Cadmio (Cd).

El cadmio pertenece al grupo de metales de transición (grupo B) de la tabla periódica, y se encuentra de forma natural como CdS o CdCO_3 . Normalmente se encuentra como impureza en minerales de Zn ($\sim 3 \text{ kg Cd ton Zn}^{-1}$), Cu y Pb, al igual que en el carbón y en el petróleo crudo. Los compuestos de Cd son muy tóxicos; la sobre exposición aguda a humos con Cd puede causar daño pulmonar, mientras que

la exposición crónica se asocia con daños renales y con un aumento de riesgo de cáncer (ATSDR, 2004, Csuros y Csuros, 2002).

Su principal uso es como cubierta protectora sobre otros metales, para la manufactura de baterías de níquel-cadmio y como estabilizador del PVC. El Cd entra al medio ambiente por fuentes antropogénicas como la minería, la metalurgia, la combustión de carbón y de petróleo, por la mala disposición de residuos sólidos municipales y peligrosos, así como por la quema de plásticos (principalmente PVC). Este elemento tiende a depositarse y adherirse a la materia orgánica del suelo; sin embargo, parte de él se disuelve en agua, por lo que puede llegar a los cuerpos de agua (Lide, 1997 citado por Volke *et al.*, 2005, Csuros y Csuros, 2002; ATSDR, 2005).

La formas más comunes de Cd, incluyen Cd^{2+} , complejos de cadmio-cianuro y $\text{Cd}(\text{OH})_2$. Las formas dominantes a pH alto son hidróxidos y carbonatos, mientras que a pH bajo (< 8) predominan el Cd^{2+} y especies acuosas de sulfato. Bajo condiciones reductoras, en presencia de azufre, se forma el sulfato de cadmio (CdS) que, por su estabilidad, controla su movilidad. El Cd también precipita en presencia de fosfato, arseniato, cromato y otros aniones (ATSDR, 2004; Evanko y Dzombak, 1997 citado por Volke *et al.*, 2005).

El cuerpo humano no necesita cadmio en ninguna forma. El cadmio es dañino en dosis muy pequeñas. El envenenamiento por cadmio produce osteoporosis, enfisema pulmonar, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, hipertensión, diversas cardiopatías y retraso en la habilidad verbal de los niños (Valdés y Cabrera, 1999).

Las medidas preventivas contra el envenenamiento por cadmio giran en torno a evitar su ingesta. Incrementar los hábitos de higiene en las zonas donde exista este metal en el polvo; no fumar; beber preferentemente agua purificada y usarla para cocinar y lavarse los dientes; no usar utensilios de plástico para preparar, guardar o

servir alimentos; evitar que los niños mordisqueen juguetes de plástico, bolígrafos, etc.; evitar los mariscos y las vísceras pues acumulan el cadmio. También ayuda tomar megadosis de vitamina C (varios gramos al día); tomar alimentos ricos en bioflavonoides (centeno germinado, polen de abeja, por ejemplo); tomar levadura de cerveza que contiene el complejo B y selenio (Valdés y Cabrera, 1999).

4.7. Tecnologías de remediación para suelos contaminados por EPT.

El término tecnología de remediación implica el uso de cualquier operación unitaria o conjunto de ellas, que altere la composición de un contaminante peligroso a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan su toxicidad, movilidad o volumen en la matriz o material contaminado. Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de residuos peligrosos sin tratamiento y sus posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente (US EPA, 2001).

En la legislación mexicana (PROY-NOM-138-Semarnat-2003), PROY-NOM-138-Semarnat-2003. Establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y restauración. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 19 de marzo de 2004, El término remediación de suelos se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y reestablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva. En la citada norma, el término remediación se utiliza como sinónimo de restauración, reversión, saneamiento, limpieza, rehabilitación y regeneración.

4.7.1. Factores que inciden en los procesos de remediación.

Antes de considerar la aplicación de cualquier tecnología de remediación, es fundamental conocer ciertas características, tanto del suelo (ambientales), como del contaminante y de los organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) presentes en el sitio, con potencial metabólico para degradar los contaminantes. De esta manera, los procesos de remediación dependen de estos tres factores que deben encontrarse en equilibrio (Figura 1).

La obtención de esta información requiere del muestreo y determinación de las características físicas y químicas que se describen a continuación (Van Deuren *et al.*, 2002; Alexander, 1994, Beaudette *et al.*, 2002 citados por Volke *et al.*, 2005).

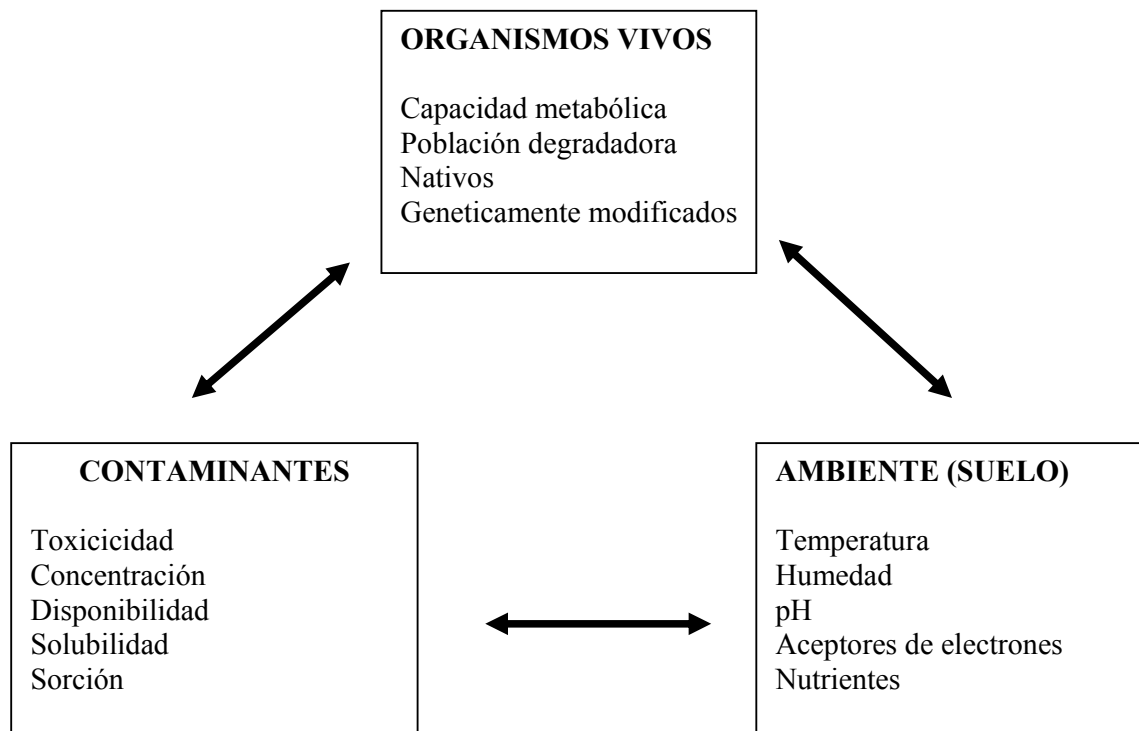


Figura 1. Factores que inciden en la remediación de un suelo.

4.7.1.1. Factores ambientales.

Dentro de los factores más importantes para la remediación de un suelo se encuentran las condiciones ambientales y las características fisicoquímicas del suelo (Volke *et al.*, 2005), tales como:

1. Temperatura. Puede afectar propiedades del contaminante así como la velocidad de un proceso de bioremediación, ya que la velocidad de las reacciones enzimáticas depende de ésta.
2. Humedad. Una alta humedad en el suelo puede provocar problemas durante la excavación y el transporte así como aumentos en los costos durante el uso de métodos de térmicos. La humedad también puede afectar los procesos de bioremediación debido a que, en general, aunque todos los microorganismos necesitan agua para subsistir, debe existir un balance, ya que si el contenido de agua es muy bajo, la actividad microbiana se detiene, y si es muy alto, disminuye el intercambio gaseoso a través del suelo.
3. Tipo de suelo. La capacidad de retención de agua de un suelo varía en función de las fracciones orgánicas y minerales. En general, los materiales no consolidados (arenas y gravas finas) son más fáciles de tratar. Asimismo, a mayor tamaño de partícula en la fracción mineral, la permeabilidad y la aireación son mayores. La capacidad de retención de agua en un suelo aumenta proporcionalmente al contenido de materia orgánica. Un suelo con alto contenido húmico disminuye la movilidad de compuestos orgánicos y con ello la eficiencia de ciertas tecnologías, como el lavado de suelos.
4. El pH afecta la solubilidad y disponibilidad de macro y micronutrientes, la movilidad de metales y la reactividad de minerales. Generalmente, los

metales son móviles a pH bajo, en forma de especies iónicas libres o como órgano-metales solubles; al pH alcalino forman carbonatos o fosfatos minerales insolubles. La actividad y crecimiento microbianos son fuertemente afectados por el pH. La mayoría de las bacterias tienen un rango óptimo de 6.5 a 8.5; si el suelo es ácido se favorece el crecimiento de hongos.

5. Aceptores de electrones. Su presencia es importante para la aplicación de tecnologías de bioremediación. La mayoría de estos son compuestos inorgánicos oxidados, como O_2 , NO_2^{2-} , Mn^{4+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-} y CO_2 .
6. Potencial redox. Mide la oxidación relativa de una solución acuosa y normalmente se encuentra controlado por el contenido de humedad del suelo. En ambientes anaerobios reducidos, los metales precipitan debido a la presencia de iones ferrosos y carbonatos; en cambio, bajo condiciones oxidantes, los metales se hacen más solubles.
7. Permeabilidad. Se refiere a la facilidad o dificultad con la que un líquido puede fluir a través de un medio permeable. La permeabilidad de un suelo es uno de los factores que controla la efectividad de tecnologías in situ. En general, una baja permeabilidad en el suelo disminuye la efectividad de la mayoría de las tecnologías de remediación.

4.7.1.2. Características de los contaminantes.

La naturaleza y características del contaminante es otra variable de suma importancia para el éxito o fracaso de un proceso de remediación. Dentro de las más importantes se encuentran: toxicidad, concentración, disponibilidad, solubilidad y sorción del contaminante a las superficies sólidas.

- I. Toxicidad. El factor clave para decidir la remediación de un sitio es la toxicidad para los seres vivos. La descarga de químicos tóxicos a un suelo implica, entre muchos otros problemas, que son generalmente resistentes a la biodegradación. La bioremediación se inhibe si un químico es tóxico para organismos degradadores.
- II. Concentración. La concentración de un compuesto en un suelo es un factor de gran importancia para definir el uso de una tecnología de remediación en particular. En general, altas concentraciones inhiben la actividad microbiana; sin embargo, la concentración inhibitoria depende de la estructura del contaminante. Algunos químicos pueden ser inhibitorios en baja concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$ de suelo seco), mientras que otros pueden serlo en cantidades mayores.
- III. Solubilidad. Es la cantidad de un elemento o compuesto que puede disolverse en agua. Los químicos difieren significativamente entre sí en cuanto a su solubilidad en agua. En general, ésta disminuye al aumentar el tamaño de la molécula y los compuestos polares son más solubles que los no polares. Mientras mayor es la solubilidad de un compuesto, mayor es su biodisponibilidad.
- IV. Sorción. La sorción de un químico a la matriz sólida del suelo afecta su solubilidad y su biodisponibilidad. La sorción incluye la adsorción (retención superficial) y la absorción (captación hacia el interior de la matriz). Los cationes generalmente son sorbidos en sitios de intercambio catiónico en minerales arcillosos o superficies húmicas, mientras que los compuestos aniónicos y no iónicos quedan sorbidos en la materia orgánica. La sorción de un contaminante a las partículas del suelo puede no sólo provocar la falta de biodisponibilidad, sino que también dificultar su extracción química.

V. Volatilidad. Es la tendencia de un compuesto o un elemento para moverse de una fase líquida o sólida a una gaseosa. Entre los metales, el Hg y el Se tienen formas volátiles.

VI. Polaridad y carga iónica. Los compuestos no polares tienden a ser hidrofóbicos y se concentran en la materia orgánica del suelo. Los compuestos no polares generalmente tienen menor movilidad en el suelo que los polares. La carga iónica determina la capacidad de un compuesto para su adsorción en un sólido.

4.7.1.3. Factores microbiológicos.

Es un factor de importancia para la aplicación de tecnologías biológicas. Este tipo de factores implica la verificación de la existencia de poblaciones de microorganismos degradadores, es decir, si existen grupos microbianos capaces de degradar o transformar el contaminante y si estos se encuentran en número suficiente. Las poblaciones microbianas pueden encontrarse en número suficiente en el sitio a tratar (autóctonas o nativas) o bien pueden adicionarse poblaciones nativas aumentadas en laboratorio u organismos genéticamente modificados (Volke *et al.*, 2005).

4.8. Biorremediación.

La biorremediación es una alternativa biológica para el tratamiento de suelos contaminados, e involucra el uso de microorganismos para remover contaminantes orgánicos presentes en el suelo, CO₂ o diversos metabolitos como productos intermediarios (Vargas *et al.*, 2002).

El concepto de biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, entre otros), para remover (extraer), degradar (biodegradar) o transformar (biotransformar) compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos o inocuos (Van Deuren *et al.*, 1997).

Los procesos biológicos que involucran enzimas como catalizadores pueden modificar moléculas orgánicas produciendo cambios en su estructura así como en sus propiedades toxicológicas, incluso dar como resultado la completa conversión de dichos compuestos en productos inorgánicos como agua, CO₂ o formas inorgánicas de N, P y S, además de componentes celulares y productos de las rutas metabólicas (mineralización) (Alexande, 1994; Eweis *et al.*, 1998; Velasco y Volque, 2003)

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio (autóctonos) o ajenos a éste (exógenos), y llevarse a cabo en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno). Al igual que otras tecnologías de remediación, la bioremediación puede realizarse en el mismo sitio sin necesidad de excavar el material contaminado (*in situ*), o bien excavándolo para tratarlo en el sitio o fuera de él (*ex situ*) (Eweis *et al.*, 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de bioremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados por hidrocarburos totales del petróleo (HTP), solventes, explosivos, clorofenoles, pesticidas e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Van Deuren *et al.*, 1997; Velasco y Volke, 2003)

4.8.1. Clasificación de tecnologías de remediación.

Las tecnologías de remediación pueden dividirse en dos categorías: tradicionales e innovadoras. En caso de la remediación de un sitio minero contaminado generalmente se requiere de ajustes de pH, condiciones oxidantes o reductoras (redox) y/o de la estabilización de los residuos (Evanko y Dzombak, 1997; US EPA, 2001; Costello, 2003).

4.8.1.1. Tecnologías tradicionales.

La idea de estos métodos es limitar la disponibilidad y movilidad de los metales contenidos en los residuos sólidos de zonas mineras. Sin embargo, muchos de estos métodos no reducen la toxicidad o el volumen de los metales presentes. Entre las tecnologías de remediación tradicionales usadas con más frecuencia para la limpieza de sitios contaminados con metales, se encuentran: vitrificación in situ, excavación y disposición, lavado e inundación de suelos, solidificación/estabilización (S/E), uso de cubiertas sobre pilas de residuos (jales) y tecnologías de bombeo y tratamiento para el caso de aguas y lodos (Volke *et al.*, 2005).

4.8.1.2. Tecnologías innovadoras.

Son tecnologías de tratamiento alternativas, cuyo número reducido de aplicaciones limita la información acerca de datos relativos a costos y desempeño. En general, una tecnología es considerada innovadora cuando sus aplicaciones a gran escala son limitadas.

La aplicación de este tipo de tecnologías nació como resultado de la observación de que los humedales (wetlands) removían, de manera natural, metales contenidos en aguas. Este tipo de tecnologías innovadoras en los Estados Unidos representan cerca del 20% de todas las tecnologías usadas para la remediación de suelos, siendo la más frecuentemente aplicada la bioremediación (11% del total), seguida por la inundación de suelos (2%) y el tratamiento químico (2%). La fitorremediación es una tecnología innovadora, con relativamente pocas pero crecientes aplicaciones (Volke *et al.*, 2005).

4.8.1.3. Alteración de propiedades del contaminante.

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden descomponerse por vía biológica, física ni química, de manera que la remediación de sitios contaminados con metales o metaloides se limita a la alteración de su solubilidad, movilidad y/o toxicidad, básicamente a través de cambios en su estado de valencia, favoreciendo su inmovilización (quelación) y/o movilización (disolución) (Stephen y Macnaughton, 1999; Bosecker, 2001 citados por Volke *et al.*, 2005). De esta manera, es posible favorecer la remoción o concentración de los metales para su posterior extracción (Lovley y Coates, 1997; GDA, 2000; Barkay y Schaefer, 2001 citados por Volke *et al.*, 2005).

4.8.1.4. Inmovilización o separación.

Por medio de estos procesos es posible concentrar EPT en suelos contaminados a través de su inmovilización, previniendo su dispersión, y puede emplearse para la

remoción de EPT de superficies y cuerpos de agua (Lovley y Coates, 1997 citado por Volke *et al.*, 2005).

El producto final concentrado puede disponerse de manera controlada o reciclarse para la recuperación de metales; dependiendo de la matriz en la que el metal se encuentre, se necesitan uno o más pasos para su tratamiento (Beaudette *et al.*, 2002; Diels *et al.*, 2002 citados por Volke *et al.*, 2005).). Este tipo de tecnologías incluye la contención de contaminantes con el uso de cubiertas, métodos de S/E (microencapsulación, vitrificación, etc.) y fitorremediación.

4.8.1.5. Movilización o disolución.

Los EPT presentes en suelos, sedimentos o residuos sólidos pueden removerse de la matriz sólida a través de su disolución en una fase acuosa, para su posterior concentración, con el uso de estrategias de bombeo-tratamiento (Beaudette *et al.*, 2002; Diels *et al.*, 2002 citados por Volke *et al.*, 2005). Entre las tecnologías que pueden clasificarse dentro de estos procesos, se encuentran: lavado e inundación de suelos, extracción química y bio-lixiviación.

Peters (1999) citado por Volke *et al.*, 2005, determinó que los agentes quelantes más eficientes para la remoción (95%) de Cu, Pb y Zn fueron EDTA, ácido nítrico y ácido nitrilo-triacético (NTA). Tokunaga *et al.*, (2002) citado por Volke *et al.*, 2005, obtuvieron una alta eficiencia de remoción (99.9% en 6 h) de As (2,850 mg/kg) de un suelo, usando una solución de lavado con ácido fosfórico.

4.8.1.6. Biosorción (inmovilización microbiana de metales).

La biosorción es la separación pasiva de metales y metaloides por interacciones con material biológico vivo o muerto y el acercamiento más práctico y ampliamente usado para la bioremediación de metales (Barkay y Schaefer, 2001 citado por Volke *et al.*, 2005). La biosorción es la remoción de Pb y Cd a partir de soluciones muy diluidas, con el uso de biomasa seca de algunas especies de algas cafés como *Ascophyllum* y *Sargassum*, que pueden acumular más de 30% (peso seco) del metal en la biomasa. También se ha reportado que el micelio de hongos de uso industrial, como *Rhizopus* y *Absidia*, son excelentes biosorbentes para Pb, Cd, Cu y Zn y también tienen la capacidad para atrapar otros metales pesados hasta en un 25% del peso seco de la biomasa (Volesky y Holan, 1995 citado por Volke *et al.*, 2005).

El uso de bacterias asociadas a leguminosas, por fijación de nitrógeno han demostrado que pueden sustituir de manera parcial, una buena cantidad de los fertilizantes que son causa de la contaminación de los mantos freáticos, por filtración en los suelos donde son utilizados, por arrastre de lluvias y otros factores ambientales hacia cauces de ríos (Gilbertson, 1981; Cabrera, 1982 citados por Hernández y Martínez, 2006).

La estimulación del crecimiento de microorganismos nativos con capacidad para la biosorción de metales es una estrategia útil para inmovilizar metales en suelos y evitar la contaminación de cuerpos de agua (Lovley y Coates, 1997; Barkay y Schaefer, 2001 citados por Volke *et al.*, 2005), como la bioremediación bacteriana mediante el uso de cepas nativas, mediante el mecanismo de la bioaugmentación o cepas modificadas genéticamente. La presencia de fertilizantes, pesticidas y herbicidas en campos agrícolas, derrames de hidrocarburos durante su extracción,

transporte ó utilización. La capacidad mostrada por aislados bacterianos acumulando, degradando ó transformando diversos contaminantes a otros de menor nocividad y por menor impacto al ambiente (Hernández y Martínez, 2006).

La formación, por vía biológica, de piromorfita ($\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$), un mineral estable de plomo, se ha sugerido como una técnica de remediación para suelos contaminados con plomo debido a que disminuye la biodisponibilidad de dicho metal (Gadd, 2000 citado por Volke *et al.*, 2005).

4.8.2. Fitorremediación.

La fitorremediación es una tecnología emergente en la que se usan diversas plantas para extraer, contener, degradar o inmovilizar contaminantes del suelo y agua (Environmental Protection Agency (EPA, 2000). La remediación de sitios contaminados con metales tóxicos es particularmente cambiante, debido a que los metales no pueden ser degradados y usualmente requiere que sean removidos, sin embargo; al aplicar procesos de remoción de metales con fuertes agentes fisicoquímicos los cuales pueden dramáticamente inhibir la fertilidad del suelo y consecuentemente tener impactos negativos sobre el ecosistema (Lasat, 2002).

El término fitorremediación se refiere a una tecnología innovadora que utiliza plantas vivas y los microorganismos asociados a su rizósfera para la remediación in situ y ex situ de suelos, lodos, sedimentos y aguas contaminados a través de la remoción, degradación o estabilización de los contaminantes, y según al tipo de tratamiento son de naturaleza fisicoquímica o biológica (Vargas *et al.*, 2002). La principal motivación para el desarrollo de este tipo de tecnología es el gran potencial para la remediación de sitios contaminados a bajos costos (Volke *et al.*, 2005). La

fitorremediación se refiere al uso de plantas, comprendiendo ésta a la flora arbórea, arbustiva, herbácea (Copaja, 1997) y algas (Kuritz, 1995; Kirk, 1996 citados por Hernández y Martínez, 2006) que tienen capacidad para almacenar y eliminar, mediante sus procesos metabólicos, sustancias tóxicas, principalmente metales pesados.

Conocida también como fitorrecuperación de suelos, se basa en el uso de cultivos con enmiendas al suelo y otras técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo (Chaney *et al.*, 1997). Estas tecnologías reúnen gran número de ventajas, sobre todo limpieza y economía; aunque dan resultado sólo a medio y largo plazo ya que requieren varios ciclos de cultivo. Una de estas tecnologías es la fitoextracción, que se basa en la absorción de los contaminantes del suelo por las plantas (Salt *et al.*, 1998), hay dos estrategias básicas dentro de ella:

- a) Fitoextracción continua perdura a largo plazo y se lleva a cabo por plantas hiperacumuladoras capaces de acumular en parte aérea concentraciones muy altas de metales;
- b) Fitoextracción inducida se debe a la adición al suelo de un complejante que incrementa la solubilidad del contaminante en cuestión (EDTA, DTPA), elevando drásticamente su concentración en la disolución del suelo y por tanto su biodisponibilidad, lo que favorece la toma del metal por la raíz.

Ello permite emplear especies vegetales acumuladoras, aunque no hiperacumuladoras, con alta biomasa (Huang *et al.*, 1997). Más recientemente la atención incrementa hacia la fitorremediación o tecnología basada en plantas para remediar sitios contaminados con metales (McGrath *et al.*, 1993 citado por Shen *et al.*, 2002; Raskin *et al.*, 1994; Chaney *et al.*, 1997). En el proceso de la

fitorremediación varios cultivos secuenciales son seleccionados de una variedad de especies, pueden ser cultivados para reducir la concentración de metales pesados en suelos contaminados a niveles ambientalmente aceptables (Raskin *et al.*, 1994).

Los metales pesados pueden ser traslocados a la parte aérea de la planta. El material vegetal rico en metales puede ser cosechado y removido desde sitios sin una excavación extensiva, sin costo por depósitos y sin pérdida de la cobertura del suelo asociada con las técnicas de remediación tradicionales (Blaylock *et al.*, 1997).

La fitorremediación ha sido propuesta de bajo costo y como una tecnología alternativa amigable con el ambiente. Muchas investigaciones indican que las plantas tienen un potencial genético a remover muchos metales tóxicos del suelo (Meagher, 2000, Lasat, 2002). De hecho, con fitoremediación, se mantienen las propiedades biológicas y la estructura física de suelo y su fertilidad y la diversidad biológica puede ser mejorada (Cunningham *et al.*, 1995; Watanabe, 1997).

Las plantas tienen una propiedad natural de tomar metales, al menos como nutrientes como Cu, Co, Fe, Mo, Mn, Ni y Zn que son nutrientes minerales esenciales, sin embargo; otros como Cd y Pb tienen una actividad fisiológica no conocida (Lasat, 2002). Se han identificado plantas hiperacumuladoras, con capacidad de acumular extraordinariamente altos niveles de metales. Byers (1935) citado por Lasat (2002), identificó al *Astragalus spp.* como acumuladora de Selenio (Se).

La fitoextracción depende de varios factores incluyendo la extensión del suelo contaminado, disponibilidad del metal para que sean tomados por las raíces y la habilidad de la planta para el intercepto, absorción y acumulación de metales en los tejidos (Ernst, 1996; Lasat, 2002). El potencial de la fitoextracción depende de la interacción entre el suelo, metal y la planta, controlada la interacción por la condición climática (Lasat, 2002). El proceso de fitorremediación es dependiente de

una adecuada planta que contenga buenos rendimientos y altas concentraciones de metal en sus brotes. Para ello las plantas hiperacumuladoras poseen la habilidad de tomar altas cantidades de metales pesados en sus brotes (Chaney *et al.*, 1997, Shen *et al.*, 2002).

Las plantas hiperacumuladoras a menudo acumulan sólo un elemento específico, y son de crecimiento por lo general lento con baja producción de biomasa (Cunningham *et al.*, 1995). Esto obliga a un manejo agronómico adecuado para su empleo práctico, ya que la extracción total metálica es el producto de biomasa de planta y la concentración de metales en los tejidos.

Sin embargo la mayoría de las especies hiperacumuladoras no son utilizadas en el campo de la fitorremediación debido por su pequeña biomasa y su poco crecimiento, por lo que ha sugerido que se utilicen especies como maíz (*Zea mays*) chicharo (*Pisum sativum* L.), avena (*Avena sativa*), canola (*Brassica napus* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), mostacilla (*Brassica juncea* L.) que pueden tomar mas metales por su alta biomasa (Huang y Cunningham, 1996; Banuelos *et al.*, 1997 citados por Shen *et al.*, 2002; Blaylock *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 1997).

A pesar del gran potencial de la fitorremediación y los muchos experimentos realizados para establecer una adecuada metodología, el empleo de plantas para la descontaminación de suelo esta todavía en la fase de desarrollo. Afirmado por Van der Lelie *et al.*, (2001), hay todavía una necesidad urgente de la investigación que apunte fundamentalmente al conocimiento de mecanismos implicados en el suelo y el compartimiento de los metales en las planta y proyectos de demostración para optimizar los procesos de fitorremediación y convencer tomadores de decisión y el gran público sobre las ventajas de la técnica. El problema principal de esta tecnología

se relaciona con la baja biomasa y la baja penetración de las raíces de las plantas hiperacumuladoras a las profundidades del suelo (Khan *et al.*, 2000).

Aunque la concentración de Pb total en muchos suelos puede ser alta, la fracción fitodisponible de Pb (soluble en agua e intercambiable) es usualmente muy baja debido a la fuerte asociación de Pb con la materia orgánica, óxidos de Fe y Mn, arcillas y precipitados como carbonatos, hidróxidos y fosfatos (McBride, 1994 citado por Shen *et al.*, 2002). La fitorremediación aplicada a suelos contaminados con elementos o compuestos inorgánicos, incluye, básicamente, tres mecanismos: la fitoextracción o fitoacumulación, la fito-estabilización y la fitovolatilización (Figura 2) (Chaney *et al.*, 1997; Raskin *et al.*, 1997; Schmidt, 2003; ITRC, 1999; Singh *et al.*, 2003; Prasad y Freitas, 2003 citados por Volke *et al.*, 2005).

Los procesos involucrados descontaminan el suelo a través de la fitovolatilización o de la fitoextracción, o estabilizan el contaminante a través de la fito-estabilización.

4.8.2.1. Fito-extracción o fito-acumulación.

Se refiere a la concentración y traslocación, a través de las raíces, de contaminantes metálicos presentes en el suelo hacia diferentes partes cosechables de la planta, dando como resultado la limpieza permanente del sitio. Algunas plantas llamadas hiperacumuladoras tienen la capacidad para acumular concentraciones de metales 10 a 500 veces mayores que otras especies, alcanzando de 1 a 5% del peso seco de la planta (Schmidt, 2003; Volke *et al.*, 2005).

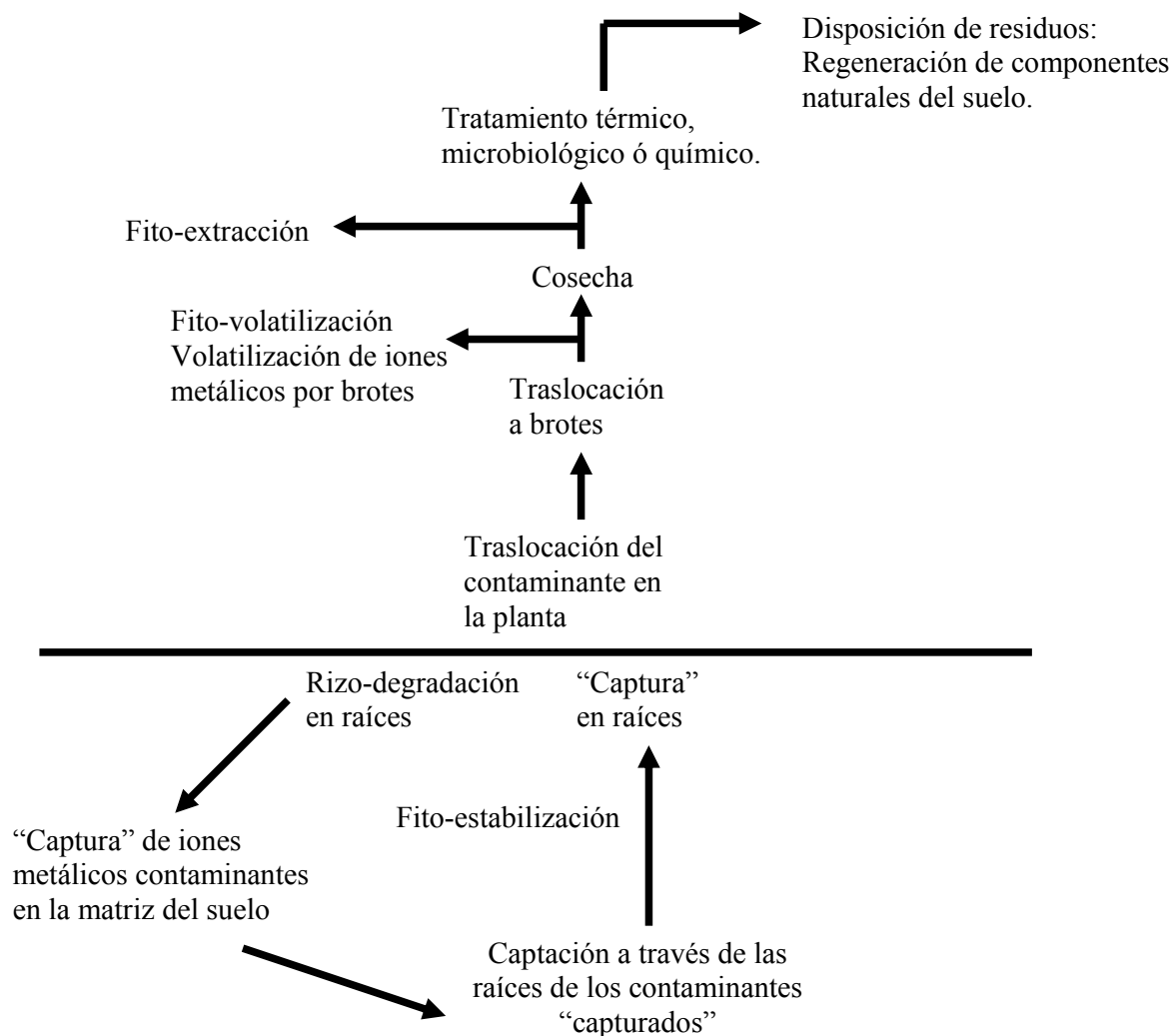


Figura 2. Descontaminación de iones metálicos en un proceso natural de fitoremediación. Fuente: Singh *et al.*, 2003 tomado de Volke *et al.*, 2005.

4.8.2.2. Fitoestabilización.

Es el uso de ciertas especies de plantas para inmovilizar contaminantes presentes en suelos a través de su absorción y acumulación en las raíces, adsorción en las raíces o precipitación por la presencia de exudados. Estos mecanismos conducen a la estabilización física de los suelos a través de una reducción en la movilidad, toxicidad y/o biodisponibilidad de los contaminantes.

Las plantas usadas con este fin deben ser especies no comestibles o especies en las que la traslocación de metales a los tejidos que crecen arriba del suelo (y que puedan consumirse por animales o humanos) sea mínima (Schmidt, 2003; Volke *et al.*, 2005).

4.8.2.3. Fitovolatilización.

Implica la captación de contaminantes volátiles (Hg y Se) por plantas y su posterior volatilización o liberación (en su forma original o modificada) a la atmósfera. Este mecanismo puede tener ventajas sobre la fitoextracción debido a que no es necesaria la cosecha ni la disposición de biomasa; sin embargo, es una tecnología de gran controversia por las implicaciones ambientales de la liberación de metales a la atmósfera.

Aunque es una tecnología con potencial para la remediación de suelos contaminados con Hg y Se, es indispensable considerar el empleo de sistemas para la captura de emisiones (Schmidt, 2003; Volke *et al.*, 2005).

4.8.3. Fito-extracción de metales.

La fitoextracción se basa en la absorción de los contaminantes del suelo por las plantas (Salt *et al.*, 1998). En la fitoextracción de contaminantes metálicos de suelos, el contaminante debe encontrarse biodisponible para que la absorción por la raíz pueda ocurrir. La traslocación (movimiento) del contaminante desde la raíz a los brotes de la planta, hace que el tejido pueda cultivarse fácilmente y disminuye la exposición de los trabajadores (Figura 3). En la práctica, las plantas acumuladoras de

metales se siembran o transplantan al sitio contaminado y se cultivan con prácticas agrícolas comunes (Volke *et al.*, 2005).

Para mejorar el proceso de fito-extracción, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelantes (Prasad y Freitas 2003 citado por Volke *et al.*, 2005).

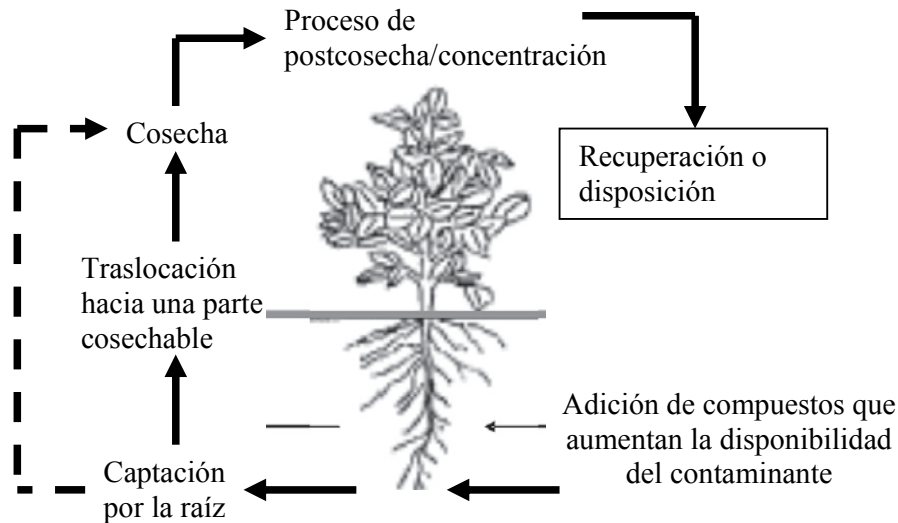


Figura 3. Proceso general de fito-extracción. Fuente: Cunningham y Ow 1996 tomado de Volke *et al.*, 2005.

Burke *et al.*, (2000), demuestra que aplicar al suelo, el fungicida Benomil, decrementa la colonización de micorrizas arbusculares en raíces de maíz suelo. Este tratamiento fue asociado con el incremento en concentración de Pb en brotes, sin embargo el Pb total removido fue inhibido al reducirse la biomasa de los brotes causado por la aplicación del fungicida.

Con excepción del Hg, los metales son absorbidos dentro de las raíces en fase acuosa. Algunos metales como Zn y Cd, ocurre primeramente en forma rápidamente disponible soluble o intercambiable. Otros como el Pb ocurre como precipitado insoluble (fosfatos, carbonatos y hidroxioxidos) los cuales son lentamente

indisponibles para que los tomen las plantas (Pitchll *et al.*, 1999; Lasat, 2002). En óxido de manganeso (MnO) también absorbe elementos traza incluyendo Pb, Zn, Cu y Ni vía adsorción superficial específica (Mc-Kenzie, 1989 citado por Green *et al.*, 2003).

4.8.4. Fitoextracción asistida por quelantes.

Las investigaciones recientes han mostrado que enmiendas químicas, como quelatos sintéticos orgánicos, pueden aumentar la biodisponibilidad de metales pesados en el suelo, lo cual optimiza la respuesta de las plantas, y el desplazamiento de los metales pesados de las raíces a las partes aéreas del vegetal (Epstein *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 1997).

La adición de agentes quelantes al suelo favorece la acumulación de metales en partes cultivables de una planta. Los agentes quelantes incrementan la solubilidad de metales en el suelo. Este proceso es el que se encuentra más desarrollado y disponible comercialmente (Volke *et al.*, 2005). El potencial de fitoextracción de Pb es limitado primeramente debido a la baja movilidad en el suelo y es poco propenso a ser absorbido (Lasat, 2002). Recientes investigaciones han inducido artificialmente la absorción de Pb de suelos sólidos. Varios agentes quelatantes han sido probados para propuesta. La adición de EDTA (ácido tetraacético-diamino-etileno) a menudo se ha recomendado por ser el más eficaz, por ejemplo, una concentración de 10 mmol Kg^{-1} de suelo, estimuló la acumulación de Pb en maíz a altos niveles de 1.6% en peso seco de brotes (Blaylock *et al.*, 1997; Lasat, 2002).

Una alternativa para la extracción del plomo del suelo es la aplicación de agentes quelantes (Vassil *et al.*, 1998; Schmidt, 2003), para hacer más eficiente el proceso,

dado que en forma natural el plomo no se encuentra bioasimilable en el suelo (Lasat, 2002).

Al emplear la extracción secuencial de EDTA sobre el efecto sobre la solubilidad del Pb asociado con diferentes fracciones de suelo, indica que el EDTA moviliza el Pb asociado como ión intercambiable y carbonato en fracciones del suelo (Kirkham, 2000). Una variedad de quelatos sintéticos tienen el potencial de inducir la reabsorción de Pb desde la matriz del suelo, esta efectividad esta dada en el orden de EDTA > HEDTA > DTPA > EGTA > EDDHA (Huang *et al.*, 1997; Schmidt, 2003).

Las especies *Brassica rapa* L. subsp. chinensis (L.) cv. Xinza No 1], *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek var. radiata cv. VC-3762, y (*Triticum aestivum* L. cv. Altas 66, al ser cultivadas en suelos contaminados con Pb y al aplicarle al suelo EDTA (3 mmolKg⁻¹ de suelo), incrementó significativamente la concentración de Pb en los brotes y raíz de todas las plantas (Shen *et al.*, 2002).

Estudios realizados sobre el efecto del EDTA en el cultivo de la col (*Brassica rapa*) las concentraciones de este quelante en el suelo aumentaron significativamente las concentraciones de Pb, Zn y Cd en las hojas de las plantas. La respuesta de las planta al Pb en particular fue mejorada. Incluso solo en la adición de dosis más baja probada de EDTA (3 mmol kg⁻¹ suelo), las concentraciones de Pb en hojas eran de 16.6 veces mayor que en las plantas testigo (Gruan *et al.*, 2001.)

Se ha demostrado que la adición de fertilizantes al suelo puede provocar un incremento en la fitoextracción de metales pesados por plantas acumuladoras. Por otra parte, se ha demostrado que la urea incrementa el cadmio intercambiable y soluble en agua del suelo, probablemente a través de la acidificación (Brown *et al.*, 1994). El ion amonio puede provocar la desorción de metales pesados de los sitios de

intercambio o de los coloides del suelo mediante intercambio de iones y así facilitar la absorción por la plantas (Lorenz *et al.*, 1994).

4.8.5. Fitoextracción continua de largo plazo.

Dentro de la fitoextracción se han empleado estrategias básicas: a) fitoextracción continua perdurable a largo plazo y se lleva a cabo por plantas hiperacumuladoras capaces de acumular en parte aérea concentraciones muy altas de metales; b) fitoextracción inducida se debe a la adición al suelo de un complejante que incrementa la solubilidad del contaminante en cuestión, elevando drásticamente su concentración en la disolución del suelo y por tanto su biodisponibilidad, lo que favorece la toma del metal por la raíz.

Ello permite emplear especies vegetales acumuladoras, aunque no hiperacumuladoras, con alta biomasa (Huang *et al.*, 1997). Más recientemente la atención incrementó hacia la fitorremediación o tecnología basada en plantas para remediar sitios contaminados con metales (McGrath *et al.*, 1993 citado por Shen *et al.*, 2002; Raskin *et al.*, 1994; Chaney *et al.*, 1997). En el proceso de la fitorremediación varios cultivos secuenciales son seleccionados de una variedad de especies, pueden ser cultivados para reducir la concentración de metales pesados en suelos contaminados a niveles ambientalmente aceptables (Raskin *et al.*, 1994).

La fitoextracción continua perdurable a largo plazo, se basa en procesos fisiológicos especializados que permiten la acumulación de metales durante todo el ciclo de crecimiento. Las plantas con esta capacidad pueden acumular, de forma natural, metales (> 1%) como Zn, Ni, Se o Mn (Volke *et al.*, 2005).

La velocidad de remoción de un contaminante depende de la biomasa reunida durante la cosecha, del número de cosechas por año y de la concentración del metal en la biomasa cosechada. El éxito de la fitoextracción depende principalmente de:

- a) La capacidad de la especie para acumular grandes cantidades del contaminante (1-3% en biomasa en peso seco) en sus tejidos cultivables.
- b) La capacidad para producir grandes cantidades de biomasa en corto tiempo (Cunningham y Ow, 1996; Prasad y Freitas, 2003 citados por Volke *et al.*, 2005).

4.8.6. Factores y consideraciones que inciden en la fitoremediación.

Uno de los principales factores que rigen la disponibilidad de iones metálicos para las plantas, es su solubilidad. La limitada biodisponibilidad de ciertos iones metálicos, debido a su baja solubilidad en agua y a su sorción a las partículas del suelo, restringe su captación/acumulación por las plantas. La solubilidad de los iones metálicos depende de varias propiedades físico-químicas del suelo, así como de su mineralogía, concentración y especie (Chaney *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2003 citados por Volke *et al.*, 2005). Algunas consideraciones generales para el diseño de un plan de fitorremediación son (ITRC, 1999 citados por Volke *et al.*, 2005):

- a) Selección de plantas.
- b) Concentración de los contaminantes.
- c) Estudios de tratabilidad.
- d) Velocidad de captación de contaminantes y tiempo requerido.
- e) Disponibilidad de agua, consumibles agronómicos y de mantenimiento.

4.8.7. Plantas con potencial de fitoextracción de metales pesados.

Los pastos son el género más adecuado para la fitorremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas (Singh *et al.*, 2003 citado por Volke *et al.*, 2005). Se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio, para la fitoremediación. A la fecha, se han identificado 163 taxones de plantas, pertenecientes a 45 familias, tolerantes a los metales y capaces de crecer en concentraciones elevadas (Prasad y Freitas, 2003 citado por Volke *et al.*, 2005, Baker *et al.*, 2000 citado por Lasat, 2002).

Según Chi-Ying *et al.*, (1974) en los experimentos realizados en invernadero, encontraron que el Pb y Cd inhiben el metabolismo de las plantas de Soya (*Glycine max* L), teniendo una reducción en el desarrollo de las raíces y la producción de biomasa, ya que los procesos afectados tienen interdependencia con la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno. Mediante el experimento se indica que los metales pesados pueden afectar el crecimiento y el rendimiento en las áreas agrícolas que se encuentran cercanas a autopistas, ciudades e industrias.

En el 2001, Vázquez-Alarcon *et al.*, investigaron la dinámica de Cd, Ni y Pb, para diagnosticar el proceso de acumulación y variabilidad en las concentraciones de cada uno de los metales en agua y suelo, en las especies maíz (*Zea mays* L), trigo (*Triticum aestivum*) y alfalfa (*Medicago sativa*), especies de gran importancia económica, realizado en el Valle del Mezquital, Hidalgo, encontrando que el primer metal se acumula anualmente en el suelo de 384 a 640 g ha⁻¹, considerada como una tasa alta, se observó que el Cd y Ni, se acumulan en el grano de trigo, lo que indica

un riesgo potencial para la salud de los organismos consumidores, mientras que el Pb, permanece en el follaje de trigo.

Evaluaciones en semillas de Trigo (*Triticum durum*), se observó que el aumento de las dosis de Cd, tiene efectos en la absorción de potasio y nitratos, disminución de la tasa de transpiración y del crecimiento radicular, y un efecto de gran importancia es la reducción de los contenidos de citocininas, que da como resultado una afectación en las hormonas.

López Cervantes, 2004, evaluó la recuperación de un suelo contaminado con plomo con el uso de ácidos fúlvicos y girasol ornamental, teniendo excelentes resultados con costos menores a los agentes quelatantes sintéticos (EDTA, DTPA, etc.).

Usando semillas de Fríjol (*Phaseolus vulgaris* L), para determinar el efecto de algunos metales pesados en el contenido de clorofila, polina, retinol, α -tocofenol y ácido ascórbico, tiene fuertes efectos importantes, el contenido de ellos disminuye a medida que se incrementan las cantidades de los metales pesados, principalmente el Hg, seguido de Cd, Cu y Pb (Fikriye *et al.*, 2005).

De la Rosa-Alvarez *et al.*, (2005) investigaron la habilidad del médano o rodadora (*Salsola Cali*) para absorber y acumular cadmio de un medio contaminado con dicho metal. Los resultados indicaron que cuando el médano crece por un periodo de quince días en agar contaminado hasta con 20 mg Cd L⁻¹, las plantas acumularon 2696, 2075, y 2016 mg Cd kg⁻¹ de peso seco en raíz, tallo y hojas, respectivamente. De acuerdo con estos resultados, *S. kali* puede considerarse un potencial hiperacumulador de cadmio. Los resultados del trabajo son de suma importancia debido a que pocas plantas desérticas han sido estudiadas para determinar los mecanismos de tolerancia e hiperacumulación de metales pesados.

Rodríguez-Ortiz *et al.*, (2006) evaluó las siguientes especies: *Cenchrus filiares*, *Helianthus annus*, *Ricinos communis*, *Nicotiana tabacum*, *Sorghum sudanense* y *Brassica campestris* para determinar su capacidad de acumulación de plomo de cada una de las especies, no logrando identificar ninguna de las seis especies como “hiperacumuladoras de plomo”.

Las hiperacumuladoras pueden concentrar mas de 10 ppm de mercurio (Hg), 100 ppm de cadmio (Cd), 1000 ppm de cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu) y plomo (Pb); 10,000 ppm de zinc (Zn) y níquel (Ni), sin embargo muchas de estas especies acumulan Ni, cerca de 30 familias acumulan Co, Cu y Zn, pocas acumulan Mn y Cd y no hay hiperacomuladoras de Pb (Lasat, 2002, Schmidt, 2003). Se han reportado especies de musgos (Briofitas) y helechos (Pteridofitas) con capacidad de crecer en sustratos ricos en metales.

Entre las Angiospermas, se han identificado cerca de 400 hiperacumuladoras; entre las familias dominantes se encuentran: Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae y Europhobiaceae. De estas familias, Brassicaceae tiene el mayor número de taxones (11 géneros y 87 especies) con capacidad para hiper-acumular metales (Prasad y Freitas, 2003). Entre las plantas comúnmente usadas para la fito-extracción de Pb se encuentran los girasoles (*Helianthus annuus*) y la mostaza de la India (*Brassica juncea*); para Zn, Cd y Ni, *Thlaspi spp.* Asimismo, se conocen cerca de 300 especies que hiper-acumulan Ni, 26 Co, 24 Cu, 19 Se, 16 Zn, 11 Mn, una Tl y una Cd (ITRC 1999 citado por Volke *et al.*, 2005).

La fitoextracción debe considerarse como una tecnología de largo plazo, que puede requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables. El tiempo requerido depende de la concentración

y tipo de contaminante(s), de la duración del periodo de crecimiento y de la eficiencia de remoción de la especie utilizada y puede tomar entre uno y 20 años (Prasad y Freitas, 2003 citado por Volke *et al.*, 2005). Se estima que la fitorremediación de un suelo contaminado con Pb (50 cm de profundidad) puede costar alrededor de 5 USDm⁻³ (Van Deuren *et al.*, 2002). Sin embargo la transferencia de metales desde el suelo a la planta depende de tres factores la cantidad de elementos potencialmente disponibles, la actividad de radios iónicos de los elementos en solución del suelo y las tasas de transferencia del elemento desde la fase sólida a líquida a las raíces de la planta (reacción cinética) (Brummer *et al.*, 1986 citado por Schmidt, 2003).

Concentraciones de 1, 5 y 10 mM de ZnSO₄ redujeron el crecimiento de plantas de *Lolium perenne*, en tanto que concentraciones de 50 mM detuvieron por completo el crecimiento. Las altas concentraciones de Zn provocaron una disminución en el contenido de Ca, K, Mg y Cu en las hojas, una disminución del rendimiento cuántico del flujo de electrones en el fotosistema II y una reducción en la eficiencia fotosintética para la conversión de energía comparado con las plantas testigo (Bonnet *et al.*, 2000).

En plantas hiperacumuladoras de metales pesados como *Brassica juncea*, el aumento en la concentración externa del metal pesado puede provocar una disminución en la tasa de transpiración y reducción del crecimiento de la hoja sin afectar la tasa de fotosíntesis (Haag-Kerwer *et al.*, 1999).

El exceso de cobre en el medio de cultivo no provocó un estrés oxidativo severo, la caída de defensas antioxidantes o pérdida de fotoprotección en frijol (*Phaseolus vulgaris*), por lo que estos pueden ser eliminados como causas de la fotoinhibición provocada por cobre en hojas intactas. Sin embargo, el tratamiento con Cu

disminuyó la concentración de clorofila en las hojas y redujo la red membranosa de tilacoides. La pérdida de clorofila y sensibilidad a la fotoinhibición pudo ser revertida mediante la adición de Fe junto con el exceso de cobre al medio de cultivo. La adición de Fe disminuyó la concentración de Cu^{2+} en las hojas. Los autores sugieren que la disminución en la concentración de clorofila en las hojas, provocada por la deficiencia de Fe inducida por Cu, es la causa de la alta fotosensibilidad del fotosistema II en plantas tratadas con Cu^{2+} . Se estableció una relación directa entre la susceptibilidad a la fotoinhibición y la densidad óptica de las hojas. Las especies vegetales adaptadas a habitats con alta intensidad luminosa aparentemente se benefician de un mayor grosor de las hojas porque la tasa de fotoinhibición es directamente proporcional a la intensidad de la luz, pero la fotosíntesis se satura por luz moderada (Pätsikkä *et al.*, 2002).

El cadmio produjo una significativa reducción del crecimiento de hojas y raíces de chícharo (*Pisum sativum* L.), así como una disminución en las tasas de transpiración y fotosíntesis, contenido de clorofila de las hojas, alteración del estado nutricional de raíces y hojas y cambios en la estructura de los cloroplastos. También se han detectado alteraciones en el metabolismo del oxígeno como lo evidencian el incremento en la peroxidación de lípidos y el contenido de grupos carbonilos, así como la disminución en las actividades de la catalasa, la superóxido dismutasa y en menor grado de la guayacol peroxidasa. Los resultados sugieren que el CdCl_2 puede inducir un estrés oxidativo en las hojas dependiente de la concentración del metal y que se caracteriza por una acumulación de peróxidos de lípidos y proteínas oxidadas, daño en las membranas e inactivación de enzimas como resultado de la inhibición de los sistemas antioxidantes, que trae como consecuencia un efecto en la viabilidad de las células (Dixit *et al.*, 2000; Sandalio *et al.*, 2001).

Las células que enfrentan concentraciones de cadmio que exceden la capacidad de detoxificación, acumulan el H_2O_2 debido a un desbalance de los sistemas redox. Esto, a su vez, puede iniciar el programa de desarrollo que lleva a la xilogenesis. El Cd no provoca daños necróticos en los ápices de la raíz pero parece acelerar la diferenciación y en consecuencia el envejecimiento (Schützendübel *et al.*, 2001).

Los síntomas de toxicidad observados en las plantas en presencia de excesivas cantidades de metales pesados pueden deberse a una diversidad de interacciones a escala celular/molecular. La toxicidad puede resultar de la unión de los metales a grupos sulfhidrilos en las proteínas, lo que llevaría a una inhibición de la actividad o a una modificación de la estructura. Además, los metales pesados pueden estimular la formación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, provocando un estrés oxidativo (Hall, 2002).

Se pueden distinguir tres mecanismos moleculares de la toxicidad de metales pesados:

- (a) La producción de especies reactivas de oxígeno por autooxidación y reacción de Fenton; reacción típica de metales de transición tales como el hierro y el cobre.
- (b) El bloqueo de grupos funcionales esenciales en biomoléculas, esta reacción se ha reportado principalmente para metales pesados no reactivos a la redox tales como el cadmio y el mercurio.
- (c) El desplazamiento de iones metálicos esenciales de biomoléculas. Los datos disponibles sugieren que el cadmio, cuando no es detoxificado rápidamente, puede iniciar, mediante la alteración del control redox de la célula, una secuencia de reacciones que llevan a la inhibición del crecimiento, la estimulación del metabolismo secundario, la lignificación y finalmente la muerte (Schützendübel y Polle, 2002).

Las respuestas de las plantas a la presencia de metales pesados es variable y se pueden encontrar genotipos tolerantes y sensibles en una misma especie. En un genotipo sensible de la especie *Betula pendula*, las concentraciones de aluminio inhibieron el crecimiento, mientras que en un genotipo tolerante, el crecimiento se incrementó hasta en concentraciones de 25 mg de Al l-1.

En el genotipo sensible hubo una pérdida de la dominancia apical y tanto las raíces primarias como secundarias detuvieron su crecimiento al incrementarse las concentraciones de aluminio (Kidd y Proctor, 2000).

En algunas especies, las poblaciones que se desarrollan en suelos contaminados con metales pesados, son más tolerantes a esos contaminantes. Sin embargo, en otras especies las poblaciones de suelos con metales pesados son igualmente tolerantes que las poblaciones que se desarrollan en suelos no contaminados. El grado de diferencia en la resistencia a metales pesados entre las poblaciones puede reflejar que tan importante fue la selección de mutantes resistentes para la evolución de ecotipos (Köhl, 1997)

Las plantas poseen una variedad de mecanismos celulares potenciales que pueden estar involucrados en la detoxificación de metales pesados y por lo tanto en la tolerancia al estrés por metales. Estos mecanismos incluyen: la inmovilización, la exclusión, la quelación y la compartimentalización de los iones metálicos, así como la expresión de mecanismos mas generales de respuesta al estrés tales como el etileno y proteínas de estrés. También se encuentran involucrados aspectos o funciones de las micorrizas y la unión a la pared celular y exudados extracelulares, la reparación de proteínas dañadas por el estrés (Cobbett, 2000; Hall, 2002).

Un mecanismo recurrente para la detoxificación de metales pesados en plantas y otros organismos, es la quelación del metal por un ligando y, en algunos casos, la

subsiguiente compartimentalización del complejo ligando-metal. La quelación extracelular por ácidos orgánicos, tales como el citrato o el malato, es importante en los mecanismos de tolerancia a aluminio. Las metalotioeninas son ligandos peptídicos ricos en cistina, codificados por un gen. Las fitoquelatinas son péptidos ricos en cistina sintetizados enzimáticamente a partir del glutatión por la fitoquelatina sintetasa (PCS) (Cobbett, 2000; Heiss *et al.*, 2003).

La exposición de plantas superiores a cadmio induce la producción de fitoquelatinas. La fitoquelatina sintetasa es constitutivamente expresada durante el desarrollo de *Brassica juncea* y su expresión es mayor en las raíces que en los entrenudos y pecíolos. Períodos prolongados de exposición a cadmio provocaron un incremento significativo de la fitoquelatina sintetasa en las hojas en tanto los niveles en la raíz no fueron afectados (Heiss *et al.*, 2003).

Se ha propuesto que el ácido salicílico participa en la protección de las plantas contra metales pesados. El tratamiento de semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) con un remojo en una solución con ácido salicílico protegió a las plántulas de los efectos tóxicos del cadmio durante el periodo de crecimiento. Los tratamientos con ácido salicílico tuvieron poco efecto en el crecimiento en la ausencia de cadmio, pero incrementaron la longitud y peso fresco de raíz y tallo e inhibieron la peroxidación de lípidos en raíces en la presencia de cadmio. Los tratamientos con ácido salicílico redujeron fuertemente o detuvieron por completo las actividades de enzimas antioxidantes (catalasa y ascorbato peroxidasa) inducidas por cadmio. Los autores concluyen que el ácido salicílico disminuye la toxicidad de Cd mediante mecanismos distintos a los de defensa antioxidante (Metwally *et al.*, 2003).

Los mecanismos de adaptación pueden ser diferentes para cada tipo de metal. Así, se ha encontrado que la acumulación de fitoquelatinas varía dependiendo del metal y

hay una relación $As/Cd/Cu > Zn > Ni/Co$ y es consistentemente mayor en plantas no tolerantes que en plantas hiperacumuladoras, excepto para el caso de As. La detención artificial de la síntesis de fitoquelatinas no tuvo efecto en la sensibilidad de plantas tolerantes y no tolerantes a Zn, Cu, Ni o Co, lo que sugiere que la secuestación basada en fitoquelatinas no es esencial para la tolerancia constitutiva o hipertolerancia a esos metales. En el caso de arsénico la secuestación con fitoquelatinas es esencial para la tolerancia constitutiva y la hipertolerancia adaptativa a este metaloide (Schat *et al.*, 2002).

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 Localización geográfica.

El área de estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) de la Universidad Autónoma Chapingo en Bermejillo, Mapimí, Dgo. (**Figura 4**).

El municipio de Mapimí se localiza entre las coordenadas $104^{\circ}36'36''$ y $103^{\circ}33'36''$ longitud Oeste y los $26^{\circ}50'24''$ y $25^{\circ}28'48''$ de latitud Norte al extremo norte del estado de Durango. Limita al Norte con el Estado de Chihuahua, al Oriente con el Municipio de Tlahualilo; por el sur a los municipios de Gómez Palacio, Lerdo y San Pedro del Gallo (Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Durango, 1998).



Figura 4. Localización Geográfica del Municipio de Mapimí, Durango. Fuente: Hernández (2004).

5.2. Clima.

En la mayor parte del municipio predomina un clima semicálido y semiseco, influyendo en gran forma para ello el Bolsón de Mapimí, la gran parte desértica que predomina en el municipio, con una temperatura máxima de 41°C y una mínima de 9°C, los vientos dominantes en esta región son densos y calientes, la temperatura media es de 18°C. La precipitación pluvial media anual es de 263.1 mm. El régimen de lluvias comprende los meses de julio a septiembre, con heladas en el mes de enero.

5.3. Desarrollo del estudio.

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero, para lo cual se utilizó suelo libre de metales pesados colectado en el Ejido la Victoria, Mapimí, Dgo. Con el suelo colectado se realizó el análisis del mismo en laboratorio, para partir como punto de referencia y en base a ello establecer los tratamientos del experimento. La segunda fase fue el establecimiento del experimento en invernadero al colocar semillas para obtener plántula de la especie a utilizar como fitorremediadora, una vez obtenida la plántula se estableció el experimento..

Posteriormente se colectó material vegetal (trompillo) *in situ* en sitios contaminados al área aledaña de Bermejillo, Dgo., una vez colectado el material vegetal se procedió al análisis del mismo en el laboratorio.

5.4 Colecta y siembra de semilla.

La colecta de semilla de la especie de estudio el trompillo (*Solanum eleagnifolium*), se realizó en el periodo de Agosto a Noviembre de 2006. La semilla se colectó de plantas silvestres del área de Bermejillo. Una vez colectada y seleccionada la semilla se dejó secar a temperatura ambiente, para posteriormente guardarla en un frasco grande de vidrio cerrado. Posteriormente se realizaron pruebas de germinación y la semilla fue sembrada en vasos de unicel de un volumen de 250 cm³, colocando dos semillas en cada vaso, para un total de 100 vasos, dejando solo una plántula por vaso (Figura 5). Se evaluó el porcentaje de germinación. Se regaron las plántulas cada 4 días con riegos ligeros, hasta los 45 días después de la siembra cuando se realizó el transplante.



Figura 5. Desarrollo de la plántula de trompillo *Solanum elaeagnifolium* a los 30 días después de la siembra

5.5. Colecta y análisis de la muestra de suelo.

La colecta de suelo se realizó en un área a una distancia de aproximadamente 4 km de la planta Metalúrgica, ubicada en el Ejido La Victoria, Municipio de Mapimí, Dgo. Para verificar que el suelo se encontraba libre de metales pesados se llevó a cabo un muestreo en una hectárea en donde se colectaron muestras de suelo en el estrato de 0 a 30 cm de profundidad. Cada punto de muestreo fue georreferenciado con GPS (Etrex, GARMIN), obteniendo 16 muestras simples para obtener una muestra compuesta de 4 Kg. La muestra de suelo compuesta, la cual se puso a secar en papel en laboratorio a medio ambiente por una semana, se colocó una etiqueta con la información de localización, profundidad, muestra, fecha. La muestra seca se homogenizó mediante molido con un rodillo de madera, luego se obtuvo una submuestra de suelo seco, por el método del cuarteo, y esta se tamizó empleando un tamiz de malla de 2 mm de diámetro, hasta obtener 1 Kg., de muestra homogenizada para realizar el análisis físico-químico, basado en algunos principios en la preparación de la muestra de suelo que marca la norma AS-01 NOM-021-RECNAT-2000 y de metales pesados principalmente plomo y cadmio.

El suelo tamizado se llevó al laboratorio de agua-suelo-planta para su respectivo análisis de variables físicas:

- Textura (%) (Hidrómetro de Bouyoucus)
- Punto de marchites permanente (PMP)
- Capacidad de campo (CC)
- Punto de saturación (PS)

Las variables químicas evaluadas fueron:

- pH, (Potenciómetro)
- Capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Extracción con Acetato de amonio a pH 7 y cuantificados por absorción atómica)
- Conductividad eléctrica (CE), (dSm^{-1}) (Conductímetro)
- Contenido de materia orgánica (%) (Método de Walkley Black)
- Carbonatos (%) (Método volumétrico por calorimetría)
- Bicarbonatos (%) (Método volumétrico por calorimetría)
- Porcentaje de sodio intercambiable (PSI), (PSI calc., %) (Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica)
- Relación de absorción de sodio (RAS) (%) (Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica)

Análisis de metales pesados como:

- Plomo total (Pbt), por medio de extracción ácida (ppm) (Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica)
- Cadmio total (Cdt), por medio de extracción ácida (ppm) (Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica)

5.5.1. Análisis de metales pesados de la muestras de suelo.

De la muestra total de suelo tamizada y homogénea, se hicieron 10 muestras de 10 g pesados en la balanza analítica, posteriormente fueron colocados en 10 vasos de precipitados para analizar plomo total y cadmio total, empleando 5 repeticiones para cada determinación.

5.5.1.1. Análisis de plomo total.

Para la determinación de plomo total se le agregó 10 g de suelo a cada uno de cinco vasos de precipitado, posteriormente se agregó 50 ml de ácido nítrico 4M como solución extractora, se colocó en baño maría por cuatro horas a 70°C y se enfrió a temperatura ambiente. Después se agitó por una hora con el agitador y se filtró para luego llevarla a leer al espectrofotómetro de absorción atómica. La metodología esta resumida en la Figura 6.

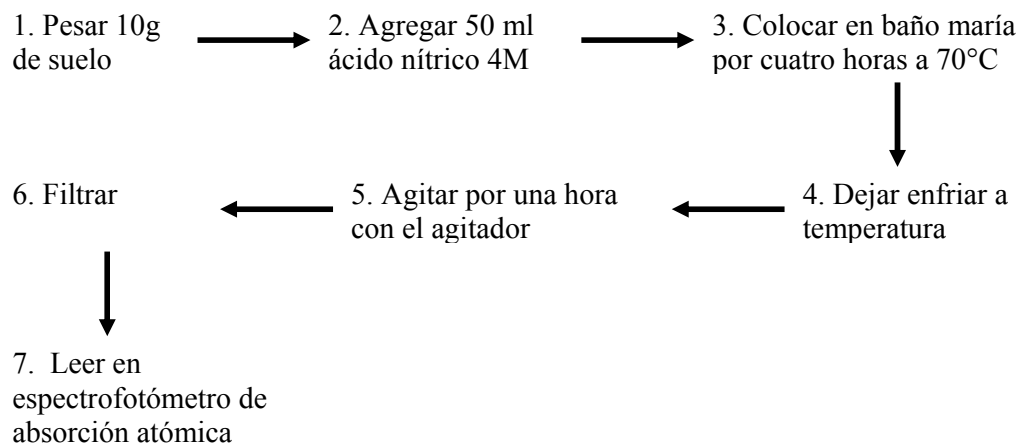


Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología para extraer plomo (Pb) y cadmio (Cd) total en suelo.

5.5.1.2 Análisis de cadmio total.

Para la determinación de cadmio total se agregó 10 g de suelo a cinco vasos de precipitados se les agregó 50 ml de ácido nítrico 4M como solución extractora, se colocó en baño maría por cuatro horas a 70°C y posteriormente se enfrió a temperatura ambiente. Luego se agitó por una hora y se filtró para luego llevarla a

leer al espectrofotómetro de absorción atómica. La metodología esta resumida en la Figura 6.

De los puntos georeferenciados con GPS (Etrex, GARMIN) se tomó la cantidad de suelo homogéneamente mezclado, para ser llenadas 60 macetas utilizadas en el experimento, de una capacidad de 7 Kg de suelo por maceta, que hicieron un total de 420 Kg de suelo.

5.6. Diseño experimental.

A los 45 días después de la siembra se realizó el trasplante de plántulas del trompillo (*Solanum elaeagnifolium*), en macetas de plástico de 10 Kg. El experimento se estableció bajo un diseño de bloques al azar con dos factores de variación y cuatro repeticiones. Los factores de variación consistieron en la concentración de plomo y cadmio (tres niveles: Pb, Cd y Pb + Cd con 500, 10, 500+10 ppm, respectivamente) y dosis de fertilización nitrogenada (cinco niveles: 0, 50, 100, 150, 200 ppm de N Kg⁻¹ de suelo).

A los 10 días después del transplante se agregó al suelo el metal contaminante Pb y Cd o la combinación de ambos metales pesados. La fuente de plomo fue Pb(NO₃)₂, en tanto que la fuente de cadmio fue Cd(Cl)₂. El factor dosis nitrogenada se agregó a los 20 días después del trasplante: la fuente de nitrógeno fue el fertilizante fosfo-nitrato (33-03-00).

El diseño experimental fue en bloques completamente al azar (5x3), con 15 unidades experimentales. La unidad experimental estuvo constituida por una maceta de plástico conteniendo 7 Kg de suelo y una planta de trompillo. Los 15 tratamientos con 4 repeticiones hicieron un total de 60 macetas.

El muestreo fue a los 110 días después de la aplicación de las concentraciones de los metales y a los 100 días después dosis nitrogenada, para evaluar la concentración de plomo y cadmio en los órganos de la planta del trompillo hoja, tallo y en la raíz mediante espectrofotometría de absorción atómica.

5.7. Colecta de muestras vegetal.

A los 110 días transcurrido la aplicación de metales pesados y a los 100 días de la fertilización nitrogenada se realizó el muestreo de cada uno de los órganos de la planta del trompillo como hoja, tallo y raíz el cual se sometió a digestión ácida para determinar la concentración de plomo y cadmio, de acuerdo al método de la EPA 200.3, una derivación del método 3050 (U. S. EPA, S. F.).

Una vez colectadas las muestras, se llevaron a laboratorio y se obtuvo el peso fresco para cada uno de los tratamientos, posteriormente se colocaron en una estufa para secarlas a una temperatura de 75 °C. Ya secas las muestras se pesaron de nueva cuenta para determinar el peso seco y sacar la relación de materia seca producida. Posteriormente para cada una de estas muestras se molieron con mortero hasta obtener un polvo fino.

También fueron colectadas plantas de trompillo *in situ*, en sitios contaminados en áreas aledañas a Bermejillo, las muestras se lavaron con hipoclorito de sodio y agua destilada para eliminar todo el suelo y polvo fino suspendido sobre la cubierta vegetal, posteriormente se colocaron en la estufa para secarlas a una temperatura de 75 °C, para posteriormente molerse con un mortero hasta obtener un polvo fino.

5.8. Variables evaluadas en material vegetal.

Las variables evaluadas fueron:

- Acumulación de Pb y Cd en tallo, hoja, raíz.
- Materia seca producida (MS)
- Tasa fotosintética.

5.9. Preparación de muestras vegetales para análisis de Pb y Cd.

Las muestras de los diferentes órganos vegetales del trompillo secos se pesaron para obtener porciones de 0.5 g y se colocaron en matraces de 250 ml, se le agregaron 10 ml de mezcla digestora de ácido nítrico (HNO_3) y ácido perclórico (HClO_4) en una relación 3:2. Las muestras se colocaron en una plancha de calentamiento alrededor de 20 minutos hasta quedar la digestión de un color transparente. Se retiraron de la plancha y se dejaron enfriar. Una vez fría la muestra, éstas se filtraron mediante el uso de filtros de papel Whatmn N° 40, en un matraz de aforación de 100 ml. Una vez que se filtró, la solución se diluyó con agua tridestilada hasta aforar a 100 ml y se mezcló perfectamente.

Posteriormente, se prepararon sub-muestras colocando 2 ml de la preparación, adicionando 8 ml de agua tridestilada y finalmente se llevaron al espectrofotómetro para hacer las lecturas. .

5.10. Medición de tasa fotosintética.

Para la determinación de la tasa fotosintética del trompillo (foto) expresada en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, se utilizó el medidor portátil LICOR LI6400, en el cual se usó una concentración constante de CO_2 de referencia de $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ utilizando una fuente externa de este gas y el flujo de aire se ajustó a $400 \mu\text{mol s}^{-1}$.

5.11. Análisis estadístico.

Para realizar el análisis estadístico de las variables concentración de plomo y cadmio, así como de acumulación de materia seca se utilizó el programa STATISTICA Kernel release 7.0 (Stat soft Inc. 2004). Para identificar los efectos de interacciones se utilizó el paquete estadístico MINITAB 14. También se utilizó el paquete estadístico SAS Versión 9.0 (Institute Inc., Cary NC, USA, 2002), para realizar un análisis de varianza y prueba rango multiple de medias Tukey a 0.05.

Se realizó el análisis de los datos de fotosíntesis en el paquete estadístico SAS Versión 9.0 (Institute Inc., Cary NC, USA, 2002), para realizar un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey a 0.05.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En estudios previos de variación espacial de concentraciones de plomo en suelos del área de Bermejillo, Dgo., se encontraron altas concentraciones de plomo que van de valores de 1763.75 ppm, a valores bajos de 24.35 ppm, mostrando que existe una contaminación alrededor de una planta metalúrgica en Bermejillo, Dgo. (Trejo *et al.*, 2007).

6.1. Análisis de vegetación “*in situ*”.

Trejo *et al.*, (2007) evaluaron la concentración de plomo en plantas *in situ* e, identificaron algunas especies vegetales potencialmente acumuladoras de plomo, entre las que destacan *Drymaria arenaroides* (159ppm), *Trifolium pratense* (347ppm), *Solanum elaeagnifolium* (134.75ppm), *Acacia farnesiana* (196.50ppm), *Sphaeralcea angustifolia* (115.75ppm), *Tidestromia lanuginosa* (358ppm), *Prosopis glandulosa* (99.75ppm), dado que algunas plantas son anuales y de rápido crecimiento, permiten realizar prácticas de fitoextracción con estas especies.

En el presente estudio se muestrearon plantas *in situ* de *Solanum elaeagnifolium* en las cuales, una vez que se colectaron se georreferenciaron con un GPS (Etrex, GARMIN), correspondiendo a las coordenadas reportadas en la Figura 7, que corresponden a isolíneas de distribución de las concentraciones de plomo en Bermejillo, Dgo (García *et al*; 2006).

En las muestras colectadas se analizaron los cuatro órganos raíz, tallo, hoja, fruto, encontrándose concentraciones de plomo en sus tejidos (**Cuadro 1**).

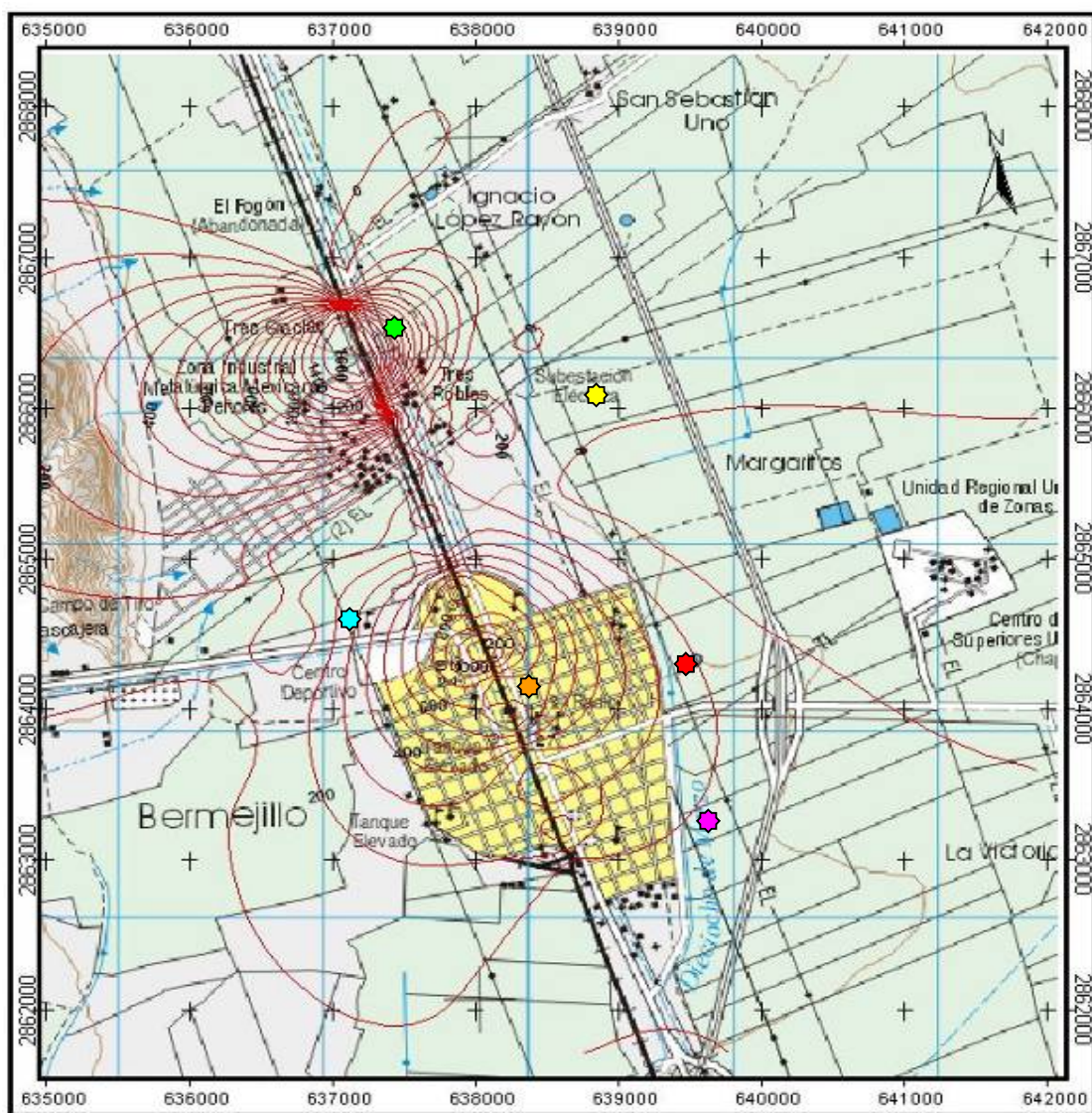


Figura 7. Puntos verdes sitios de muestreo de material vegetal en las diferentes isolíneas de distribución de concentraciones de plomo en Bermejillo, Dgo, tomado de trabajo previo de García *et al*; 2006.

Cuadro 1. Concentraciones de Pb en *Solanum elaeagnifolium* in situ.

Punto	Pb raíz (ppm)	Pb tallo (ppm)	Pb hoja (ppm)	Pb fruto (ppm)	Pb planta (ppm)	Coordenadas geográficas	
						Longitud	Latitud
1 ●	5	9.4	8.7	10.6	38.7	637353	2865556
2 ●	6.3	5.6	6.6	6.6	35.1	637199	2864511
3 ●	7.6	7.7	10.4	7.7	48.4	637730	2864501
4 ●	7.9	9.2	8.2	8.4	53.6	638001	2865609
5 ●	9	11.4	9.3	11	65.8	638757	2863156
6 ●	11.5	9.6	10.3	10	71.4	638623	2864607

Estos datos muestran que por ser un metal pesado y de poca movilidad la mayor parte se acumula es la raíz (Sias *et al.*, 1998), sin embargo comparado con el análisis de las muestras de *Solanum elaeagnifolium* que se realizó in situ en este estudio, demuestran que la acumulación de plomo varia en rangos en planta total que van de 35.1 a 71.4 ppm, para el caso de raíz desde 5 a 11.55ppm, en tallo de 9.4 a 11.35ppm, en hoja de 6.6 a 10.4ppm y en fruto de 6.55 a 11ppm, siendo muy similares en cuanto acumulación en sus diferentes órganos del tromplillo. Hay que tomar en cuenta que no se sabe cual es la edad de la planta y cuanto es el tiempo de exposición de los metales pesados. Por otra parte el punto 5 y 6 corresponde al área agrícola, donde muestran una mayor acumulación de Pb, esto se puede atribuir a implicaciones de manejo agrícola como riego, fertilización, debido e ello pudiera tener un efecto de disponibilidad del metal.

Sin embargo, Sias *et al.*, (1998), estudió *in situ* diferentes especies de plantas silvestres entre las que se encuentra *Prosopis glandulosa*, *Salsola kali*, *Solanum elaeagnifolium* y *Cevallia sinuata*. Los resultados demostraron que solo dos especies de plantas acumularon mas plomo en sus órganos, *Solanum elaeagnifolium* encontrándose niveles de plomo en raíz, tallo y hoja de 1875, 97, 380pmm, respectivamente y las concentraciones de Pb en *Cevallia sinuata* en raíz, tallo y hojas fue de 578, 44 y 157 ppm, respectivamente. El contenido de Cd en los tejidos de *Solanum elaeagnifolium* se presentan en **Cuadro 2**. En algunas muestras no es apreciable el contenido de Cd, lo que podría deberse a bajas concentraciones de este metal en el suelo del área de estudio. Sin embargo solo en el punto 1 de muestreo, la respuesta por parte del trompillo es buena ya que excede un poco mas de 0.5 ppm tanto en tallo como en hoja, pero también es apreciable en el fruto, lo que indica que si hay fitoextracción por parte del trompillo sobre el Cd.

Cuadro 2. Concentraciones de Cd en diferentes órganos de *Solanum elaeagnifolium* *in situ*.

Punto		Cd raíz (ppm)	Cd tallo (ppm)	Cd hoja (ppm)	Cd fruto (ppm)	Cd planta (ppm)	Coordenadas geográficas Longitud Latitud	
1	●	0.584	0.233	0.638	0.046	1.491	637353	2865556
2	●	N/A *	0.016	N/A *	0.018	0.034	637199	2864511
3	●	0.002	0.026	0.071	N/A *	0.099	637730	2864501
4	●	0.005	N/A *	0.018	0.011	0.034	638001	2865609
5	●	N/A *	0.011	N/A *	N/A *	0.011	638757	2863156
6	●	N/A *	N/A *	N/A *	0.054	0.054	638623	2864607

*No apreciable

6.2. Germinación de semilla.

El trompillo *Solanum elaeagnifolium*; es una planta característica de las zonas áridas del norte de México, considerada como tóxica, debido al glucoalcaloide solanina, que produce un azúcar y los alcaloides saponinoides, salanidina y solaneina; ha causado considerables pérdidas en producción animal de bovinos y equinos (Fuentes *et al.*,2005). Sin embargo, también se ha encontrado que es una planta que puede acumular metales pesados (Sias *et al*; 1998, García *et al*; 2006). En la Figura 8, se muestra el ciclo fenológico del trompillo, donde destaca su época de reproducción, crecimiento y periodo de latencia (Melgoza *et al*; 2006).

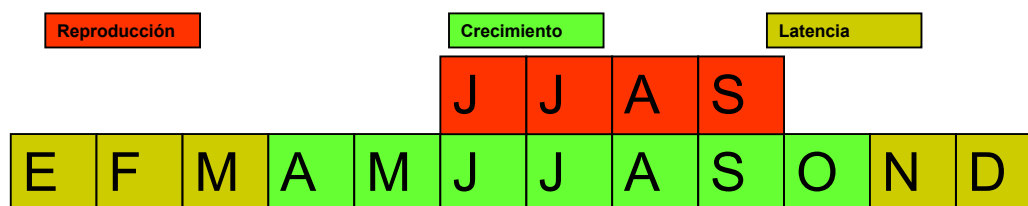


Figura 8. Ciclo fenológico de trompillo *Solanum elaeagnifolium*.

El porcentaje de germinación logrado en los trabajos previos para lograr la propagación de esta especie fue satisfactorio ya que hubo un 95% de germinación empleando semilla de trompillo *Solanum elaeagnifolium*; las primeras plantas germinaron a los 15 días después de la siembra.

6.3. Análisis de suelo.

El suelo representa un ecosistema donde se puede encontrar una gran variedad de compuestos tóxicos. El suelo como un cuerpo natural que conforma el hábitat de bacterias, hongos, levaduras, virus y plantas superiores, entre otros, que sirve para la alimentación de los animales y del hombre a través de los ciclos tróficos.

La industrialización y urbanización han generado una gran cantidad de desechos que son incorporados al suelo, lo cual ocasiona tanto la reducción de su fertilidad como la modificación de sus procesos naturales. Por lo anterior, es necesario conocer las características particulares del suelo para determinar su grado de contaminación y, consecuentemente, aplicar algunas de las tecnologías de remediación existentes.

Algunos de los parámetros físico-químicos evaluados en el suelo, son comparados con el manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados (IMP-SEMARN-INE, 2006). Este manual fue elaborado con la finalidad de compilar algunas técnicas de análisis de suelos, necesarias para el seguimiento de la remediación y caracterización de sitios contaminados. Algunas han sido modificadas, para adaptarlas a suelos contaminados y optimizar recursos y tiempos de análisis.

El resumen del análisis físico y químico del suelo se muestra en el Cuadro 3. De acuerdo a los criterios de evaluación de un suelo con respecto a su pH (AS-02 NOM-

021-RECNAT-2000), el suelo empleado se encuentra en la categoría de suelo medianamente alcalino con rango de pH de 7.4 a 8.5. Asimismo, de acuerdo con la clasificación de suelos con base en el contenido de sales medido como conductividad eléctrica, el suelo empleado en este estudio se encuentra en la categoría de no salino con una conductividad de 2 dSm⁻¹ (Vázquez y Bautista, 1993).

Cuadro 3. Resultado del análisis físico-químico del suelo empleado en el experimento.

Variable	Valor	Método
pH	8.2	Potenciómetro
Conductividad eléctrica (dSm ⁻¹)	2.0	Conductímetro
Calcio soluble (Ca ⁺² meq L ⁻¹)	4.0	Extracción con Acetato de amonio a pH 7 y cuantificados por absorción atómica
Magnesio soluble (Mg ⁺² meq L ⁻¹)	7.0	
Sodio soluble (Na ⁺¹ meqL ⁻¹)	7.0	
Potasio soluble (K ⁺¹ meqL ⁻¹)	2.1	
Porcentaje de sodio intercambiable (PSI calc., %)	5.36	Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica
Carbonatos totales (CaCO ₃ , %)	13.0	Método volumétrico por calorimetría
Materia orgánica (%)	2.3	Método de Walkley Black
Nitrógeno disponible (N-NO ₃ , mg Kg ⁻¹)	16.3	Extracción con Acetato de amonio a pH 7 y cuantificados por absorción atómica
Fósforo disponible (P, mg Kg ⁻¹)	12.0	
Potasio disponible (K, mg Kg ⁻¹)	40.1	
RAS %	2.99	
C %	1.33	Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica
Nt %	0.11	Extracción con Acetato de amonio a pH 7 y cuantificados por absorción atómica
Arena %	45.88	Método Keldal
Limo %	34.0	Hidrómetro de Bouyoucus
Arcilla %	20.12	
Clase textural	Franco	Triangulo de texturas
Pb total(ppm)	22.924	Cuantificación de cationes solubles por absorción atómica
Cd total (ppm)	0.102	

Los resultados del análisis indican que el suelo empleado presenta una textura franco con categoría C, de acuerdo a la Norma la NOM-021-RECNAT-2000.

6.4. Pb total y Cd total en el sustrato.

El contenido total de plomo en el suelo fue en promedio de 22.924 ppm. Esta concentración de plomo es relativamente baja. Asimismo, el contenido de cadmio total en el suelo fue bajo, ya que en promedio éste mostró un contenido de 0.102 ppm. En las normas oficiales mexicanas no existe una que marque los límites máximos permisibles de metales pesados en suelos para que se pueda considerar como tóxico o contaminante. Assadian *et al.*, (1998) mencionan que un rango global en cuanto a la concentración de Plomo va de 2 a 200 ppm. Cabe mencionar que existen rangos donde se indica el máximo permisible de algún contaminante, sin que esto quiera decir que exista una contaminación en esa área; cuando se considera que hay contaminación es cuando los contenidos de cierto metal rebasan el máximo permisible. Sin embargo, el plomo se ha encontrado en niveles altos en varias fuentes naturales y antropogénicas, en regiones áridas y semiáridas del norte de México (Alarcón y Flores, 2005).

6.5. Tasa fotosintética de trompillo.

El análisis de la variable fotosíntesis se llevó a cabo con el procedimiento para el modelo lineal general Fotosíntesis: Bloque N METAL N* METAL, obteniendo una R^2 de 0.72, un CV= 27.57, media de $11.13 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y es altamente significativo con $P < 0.0001$.

Por otro lado, el análisis fue altamente significativo entre bloques ($P < 0.0001$). Sin embargo, el efecto de la dosis de nitrógeno no fue significativo y las concentraciones de metales tampoco provocaron diferencias significativas en la tasa fotosintética

$P > 0.05$. Tampoco hubo una interacción significativa entre la concentración de metales pesados y la dosis de fertilización nitrogenada con ($P > 0.05$), es decir los tratamientos fueron estadísticamente iguales (Cuadros 4 y 5).

Los factores de fertilización nitrogenada y presencia de metales pesados por separado no provocaron diferencias significativas en la tasa fotosintética de las plantas de trompillo. El análisis de la interacción de estos dos factores muestra que esta tampoco fue significativa, aunque se alcanza a identificar que hay algo de interacción entre los mismos (Figuras 9 y 10).

Cuadro 4. Medias de tasa fotosintética de plantas de trompillo crecidas en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Dosis de N (ppm)	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
150	14.03 a
200	11.32 b a
50	11.01 b a
0	10.78 b a
100	9.75 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

Cuadro 5. Medias de tasas fotosintéticas de plantas de trompillo crecidas en diferentes concentraciones de metales pesados.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
500	10	11.98 a
0	10	11.18 a
500	0	10.20 a

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

En la figura 10 se muestra como la tasa fotosintética tiende a ser paralela para ambos factores (fertilización nitrogenada y presencia de metal pesado) por lo que se identifica la ausencia de interacción entre esos factores.

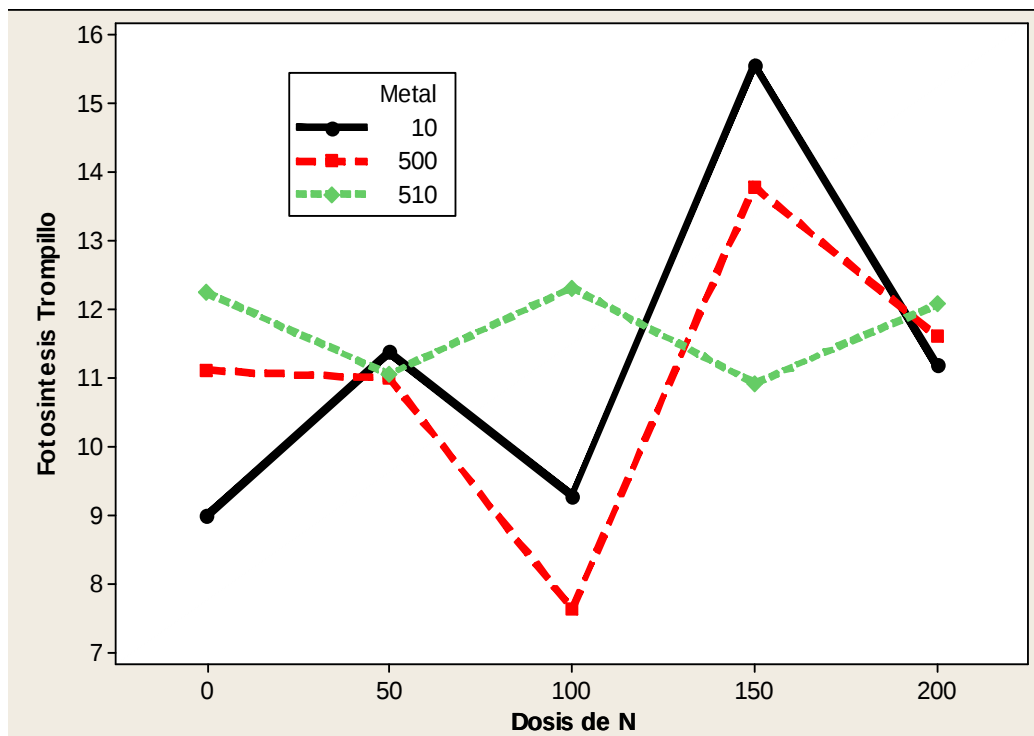


Figura 9. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la fotosíntesis del trompillo.

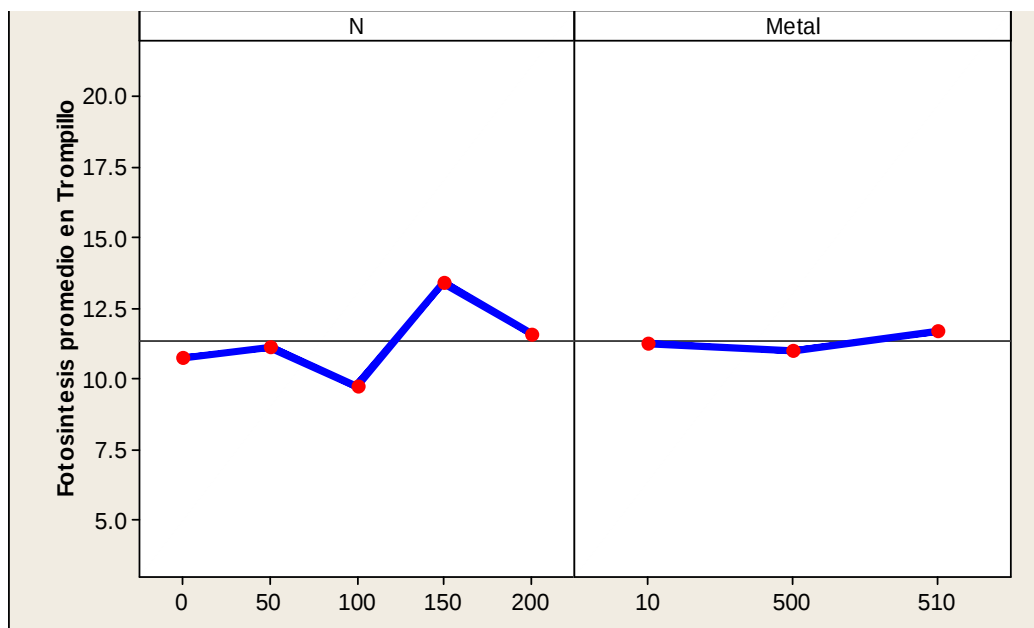


Figura 10. Principales factores y su efecto en la interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150, 200 ppm) y Concentración del Metal pesado (10 ppm de Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm de Cd) en la fotosíntesis del trompillo.

Para eliminar algunas anomalías que pudieran afectar a la fotosíntesis como la radiación solar que varia de un tiempo a otro y cómo la medición duró aproximadamente una hora en el rango de las 13:00 a las 14:10 horas, se realizó una transformación de los datos observados de fotosíntesis a residuales para identificar si el modelo es adecuado (Draper y Smith; 1981; Meter *et al*; 1985). En la **Figura 11A**, se muestra una tendencia lineal positiva con una prueba de normalidad de los residuales, por otro lado en la **Figura 11B**, se muestra el orden de los datos de la fotosíntesis contra los residuales, en las que claramente se observa que el modelo es ajustado a cero en un modelo lineal, con una buena distribución de los datos.

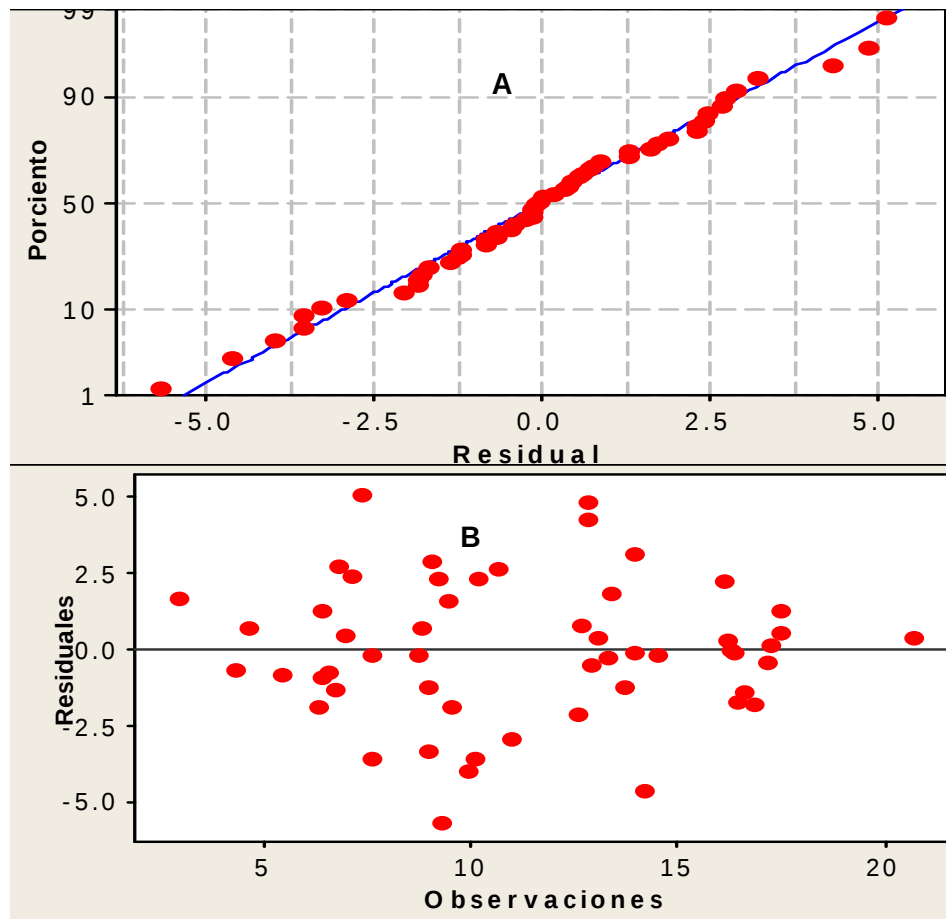


Figura 11. Transformación de los datos observados de fotosíntesis a residuales. **A.** Tendencia lineal positiva con una prueba de normalidad de los residuales. **B.** Modelo ajustado a cero en un modelo lineal, en la que se observa una buena distribución de los datos.

Realizando una regresión contra el tiempo se observó una $R^2 = 0.82$ $F(1,52) = 237.6$ $p < 0.0000$. Los coeficientes son altamente significativos. Quedando la regresión de la siguiente manera $\text{Fotosíntesis} = -175.599 + 330.950 * t$, que significa que para la actividad fotosintética se incrementa en $330.95 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por unidad de tiempo en el rango de las 13:00 a las 14:10 horas, resultando con un promedio de $11.13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Las tasas máximas de fotosíntesis se producen cuando los niveles de luz se encuentran entre 400 y 600 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, y a partir de 600 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ se produce por lo general un descenso en la tasa de fotosíntesis por fotoinhibición (Quero *et al.*, 2004). Por otra parte, de acuerdo con Jacobsen *et al.*, (2000), la fotosíntesis máxima a concentraciones normales de CO_2 y la saturación de luz son normalmente de 14-40 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para plantas C_3 y 18-55 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para plantas C_4 . La respiración oscura de las hojas es de 0.5-3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La fotorrespiración en hojas fotosintetizadoras de plantas C_3 es de 25% de la fotosíntesis neta. En plantas C_4 no se produce fotorrespiración.

Escalante (2007), al comparar tasas fotosintéticas de plantas cultivadas y malezas, reporta tasas fotosintéticas para el trompillo de 51.01, 51.83 y 20.54 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, comparando tres fechas de medición 8, 25, 28 de junio. Las condiciones donde se desarrolló el trabajo fueron en condiciones de riego, mostrando una alta fotosíntesis.

El trompillo se clasifica como una planta C_3 la cual alcanza su óptimo de fotosíntesis a temperaturas menores de 30°C y trayendo como consecuencia a temperatura mayor de 30°C provoca un cierre de estomas reduciendo el proceso fotosintético, ya que en condiciones de invernadero alcanzan rápidamente estas temperaturas, por ello se presumen tasas fotosintéticas promedio de $11.13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Según Chi-Ying *et al.*, (1974) en los experimentos realizados en invernadero, encontraron que el Pb y Cd inhiben el metabolismo de las plantas de soya (*Glycine max* L), teniendo una reducción en el desarrollo de las raíces y la producción de biomasa, ya que los procesos afectados tienen interdependencia con la fotosíntesis.

6.6. Materia seca en raíz.

Para la materia seca del órgano raíz, el modelo mostró diferencias significativas ($P < 0.0280$). Sin embargo, hubo un alto coeficiente de variación de 54.38, una media de 1.5189 g de producción de MS en el órgano raíz y una R^2 de 0.45.

El análisis permitió identificar que entre bloques, Dosis de N e interacción Dosis de N*Concentración del Metal no provocaron diferencias significativas en la acumulación de materia seca ($P > 0.05$), lo cual indica que la selección del diseño bloques al azar fue adecuado. Sin embargo, al revisar el efecto de las diferentes concentraciones de los metales se pudo observar que hubo diferencias altamente significativas con una $P < 0.0019$. Para el factor Concentración del Metal Pesado al menos 20 unidades experimentales no son significativamente diferentes con la concentración de 10 ppm de Cd, con una media de 2.1g de producción de MS en el órgano raíz (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la producción de MS en el órgano raíz.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media MS en raíz (g)
0	10	2.1 a
500	10	1.3 b
500	0	1.2 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

Aunque la fertilización nitrogenada se hizo con el propósito de mejorar la absorción de metales pesados, también se esperaba que este contribuyera a un incremento en la biomasa de las plantas, lo cual no ocurrió (Figura 12). Esto puede deberse a que el nitrógeno promueve principalmente el crecimiento del follaje en ocasiones en detrimento del crecimiento de la raíz lo cual coincide con los resultados de este estudio dado que la mayor cantidad de materia seca se produjo en los tratamientos sin nitrógeno. Tampoco hubo diferencias significativas en el incremento de materia seca en raíz por la interacción entre la dosis de nitrógeno y la concentración de metal, en la que las tendencias de producción de materia seca por efectos de nitrógeno y metales pesados tienden a ser paralelas.

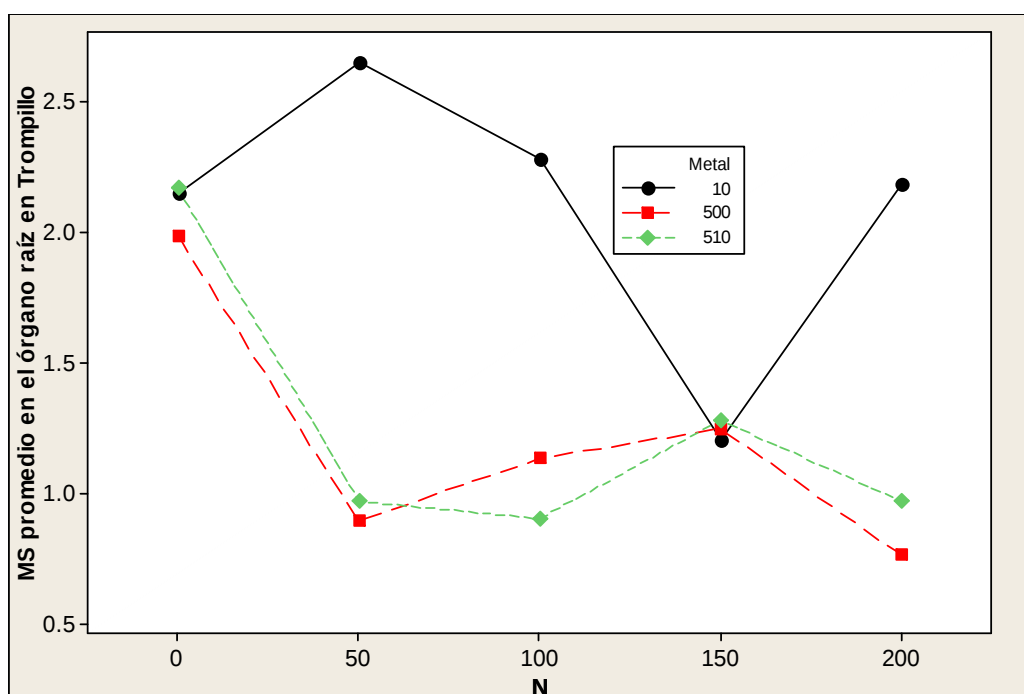


Figura 12. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en órgano raíz en trompillo.

6.7. Materia seca en tallo.

Para la materia seca del tallo, hubo diferencias significativas ($P < 0.0196$). Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 60.69, una media de 0.642g de producción de MS y una R^2 de 0.47.

El análisis permitió identificar que entre bloques e interacción Dosis de N*Concentración del Metal no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$). Sin embargo, las diferentes dosis de N y las diferentes concentraciones de los metales, produjeron diferencias altamente significativas, ($P < 0.0084$ y $P < 0.0016$, respectivamente) como se puede observar en el Cuadro 7.

Las dosis extremas de 0 y 200 ppm de nitrógeno no provocaron una acumulación de materia seca significativamente diferente ($P > 0.05$).

Cuadro 7. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la producción de MS en el órgano tallo.

Dosis de N (ppm)	Media MS en tallo (g)
0	1.0 a
200	0.7 b a
150	0.5 b
100	0.5 b
50	0.4 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

La mayor acumulación de materia seca en el tallo de trompillo ocurrió en plantas a las que se les agregó 10 ppm de cadmio (Figura 13). Las plantas que estuvieron en presencia de 500 ppm de Pb redujeron significativamente su peso seco (Cuadro 8), esto podría deberse a efectos tóxicos del plomo en las plantas de trompillo.

Cuadro 8. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la producción de MS en el órgano tallo.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media MS en tallo (g)
0	10	0.9 a
500	10	0.5 b
500	0	0.5 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

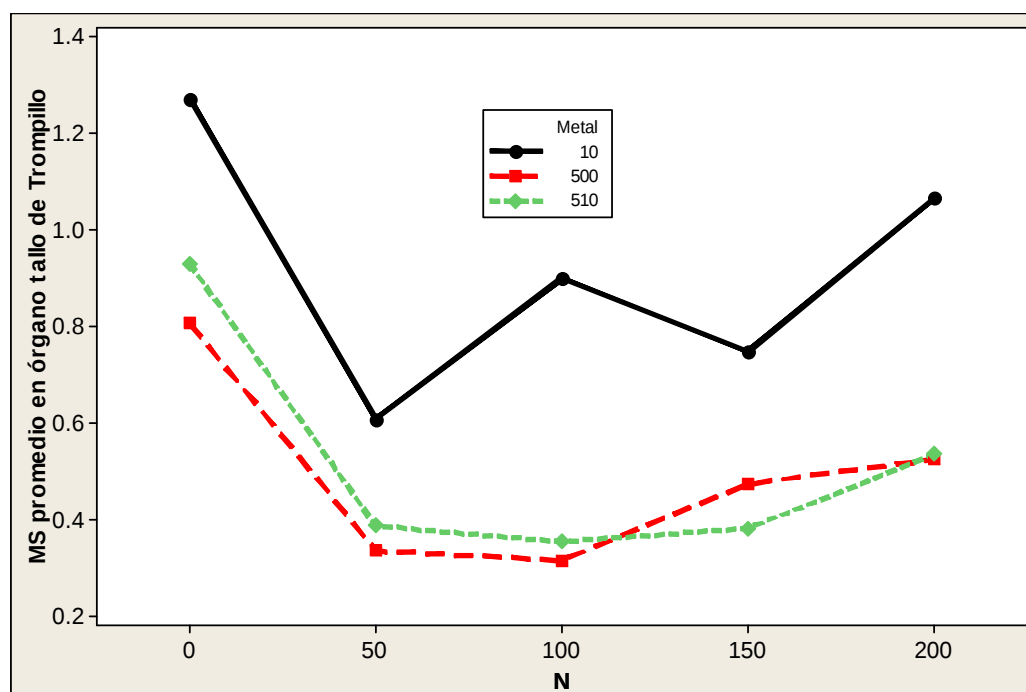


Figura 13. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en tallo en trompillo.

6.8. Materia seca en hoja.

En general las aplicaciones de nitrógeno tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas, principalmente como los iones amonio (NH_4^+) y el ión nitrato (NO_3^-), ambos son disponibles para hacer absorbidos por las plantas

(Marschener, 1986). Sin embargo el NO_3^- es mas fácilmente utilizado por las plantas por que este ión no compite con otros iones. También una vez que los fertilizantes nitrogenados son incorporados al suelo reacciona por medio del proceso de hidrólisis forma el ión NH_4^+ el cual compite con otros cationes por sitios de intercambio, esto resulta al incrementar la tasa de iones NH_4^+ también se incrementa esta competencia y mas con otros cationes incluyendo metales pesados como el Cd y el Pb llegan hacer fitodisponibles según lo observado por Mitchell y Racz (2000). Para conocer el efecto que tiene el factor dosis de N y el factor concentración de metal pesado, sobre la materia seca en el órgano hoja, los tratamientos son altamente significativos ya que $P < 0.0051$. Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 41.76, una media de 1.3g de MS y una R^2 de 0.51.

En cuanto a que el análisis permitió identificar que entre bloques e interacción Dosis de N*Concentración del Metal no fue significativo ($P > 0.05$). Sin embargo, las diferentes dosis de N y las diferentes concentraciones de los metales produjeron diferencias altamente significativas ($P < 0.0030$ y $P < 0.0010$, respectivamente), como se puede observar en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la Acumulación de MS en el órgano hoja.

Dosis de N (ppm)	Media MS en hoja (g)	
0	1.8	a
200	1.3	b a
150	1.2	b
50	1.0	b
100	0.9	b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

Mientras tanto para el factor Concentración del Metal Pesado al menos 20 unidades experimentales no son significativamente diferentes con la concentración de 10 ppm de Cd (Figura 14), con una media de 1.6g, **Cuadro 10**.

Cuadro 10. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de MS en el órgano hoja.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media MS en hoja (g)
0	10	1.6 a
500	10	1.2 b
500	0	1.0 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

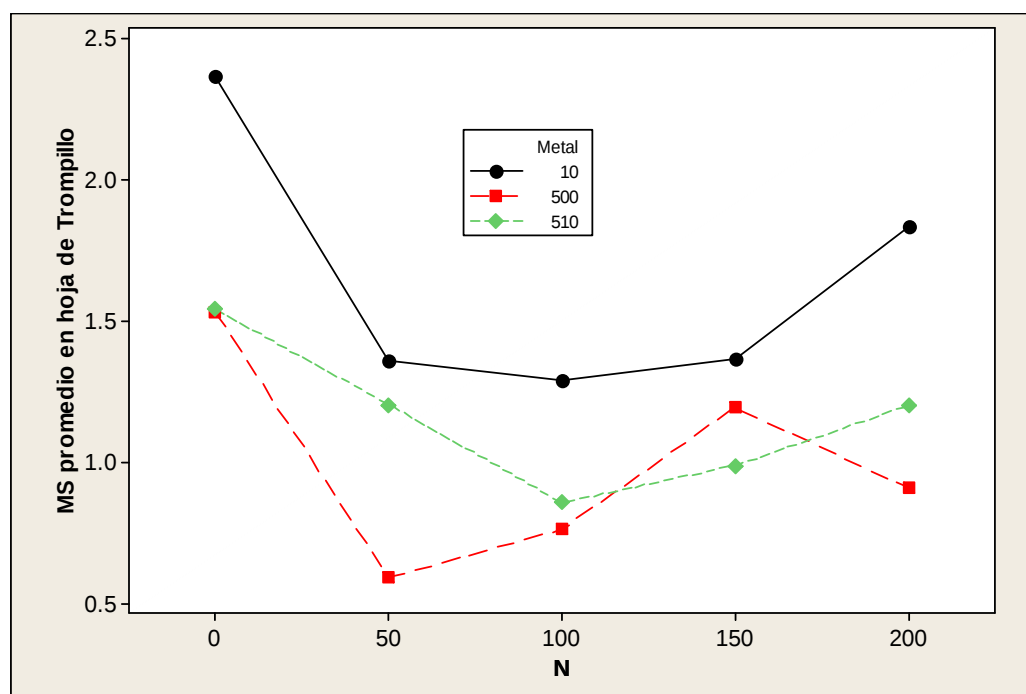


Figura 14. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en órgano hoja en trompillo.

6.9. Materia seca en planta total.

Para el análisis de la materia seca del total de la planta, se sumaron las MS de cada de sus órganos. El análisis estadístico permitió detectar diferencias altamente

significativas ($P < 0.0001$). Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 34.05, una media de 3.42 g de producción de materia seca en planta total y una R^2 de 0.63.

En cuanto a que el análisis permitió identificar que entre bloques e interacción Dosis de N*Concentración del Metal no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$), en tanto que las diferentes dosis de N y las diferentes concentraciones de los metales provocaron diferencias altamente significativas ($P < 0.005$ y $P < 0.0001$, respectivamente). La fertilización nitrogenada disminuyó significativamente la acumulación de materia seca total en las plantas de trompillo, ya que el testigo mostró una mayor acumulación de materia seca que los tratamientos con nitrógeno (Cuadro 11). Por otra parte, la presencia de plomo en el suelo (Figura 15), redujo significativamente la acumulación de materia seca total (Cuadro 12)

Cuadro 11. Análisis del factor Dosis de N y su efecto en la Acumulación de MS en planta total.

Dosis de N (ppm)	Media MS planta total (g)
0	4.9 a
200	3.3 b
50	2.9 b
150	2.9 b
100	2.9 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

Cuadro 12. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la acumulación de MS en planta total.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media MS planta total (g)
0	10	4.7 a
500	10	2.9 b
500	0	2.7 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

Aunque existen diferencias significativas entre tratamientos. Estos resultados indican que el testigo incrementa su MS más aun cuando no se le agregue fertilizante, esto se puede atribuir a la condición natural que guardan las malezas, debido a que aunque no se fertilicen, la semilla responde a las condiciones del medio. El trompillo es una maleza que cuanta con mecanismos para crecer y desarrollarse en condiciones desfavorables de nutrición ahí podría asumirse su competitividad con respecto a las plantas cultivadas. En plantas cultivadas se han obtenido resultados diferentes a los de este estudio, así Valdez-Cepeda *et al.*,(2006) reportan altos niveles Pb y acumulación de materia seca en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum L.*), por efecto de la dosis nitrogenada con nitrato de amonio.

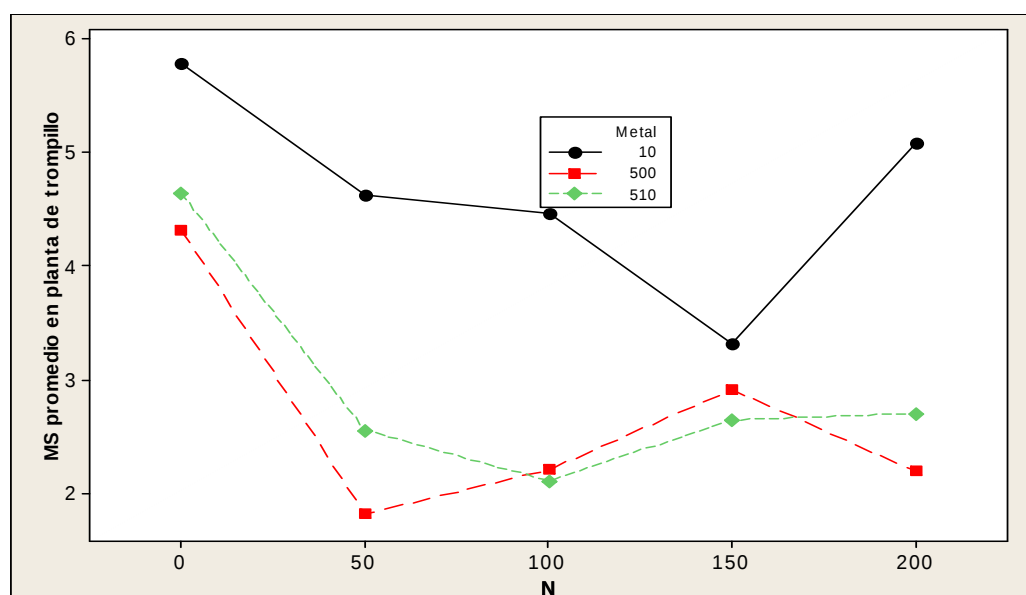


Figura 15. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la producción de MS en planta de trompillo.

6.10. Comportamiento de MS en los órganos de la planta trompillo.

En la **Figura 16**, se muestra la relación que existe entre la acumulación de MS y el efecto que tiene la dosis nitrogenada a la que fue sometido cada tratamiento

mostrando que hay diferencias significativas entre la dosis nitrogenada. Sin embargo, el tratamiento con 0 ppm de N es la que tuvo la máxima producción de materia seca en planta total con 4.91g. Además, hay que diferenciar por órgano vegetal de la planta trompillo produjo mas MS en la raíz principalmente cuando no se le agregó dosis nitrogenada, el rango de MS en la raíz estuvo entre 1.24 y 2.10g con diferencias significativas en relación con la dosis nitrogenada. Por otro lado la MS en los órganos de tallo y hoja, no mostró diferencias significativas.

Por otra parte, el problema principal de la fitorremediación se relaciona con la baja biomasa y la baja penetración de las raíces de las plantas hiper ó acumuladoras de metales a las profundidades del suelo (Khan *et al.*, 2000).

Según Chi-Ying *et al.*, (1974) en los experimentos realizados en invernadero, encontraron que el Pb y Cd inhiben el metabolismo de las plantas de Soya (*Glycine max* L), teniendo un reducción en el desarrollo de las raíces y la producción de biomasa.

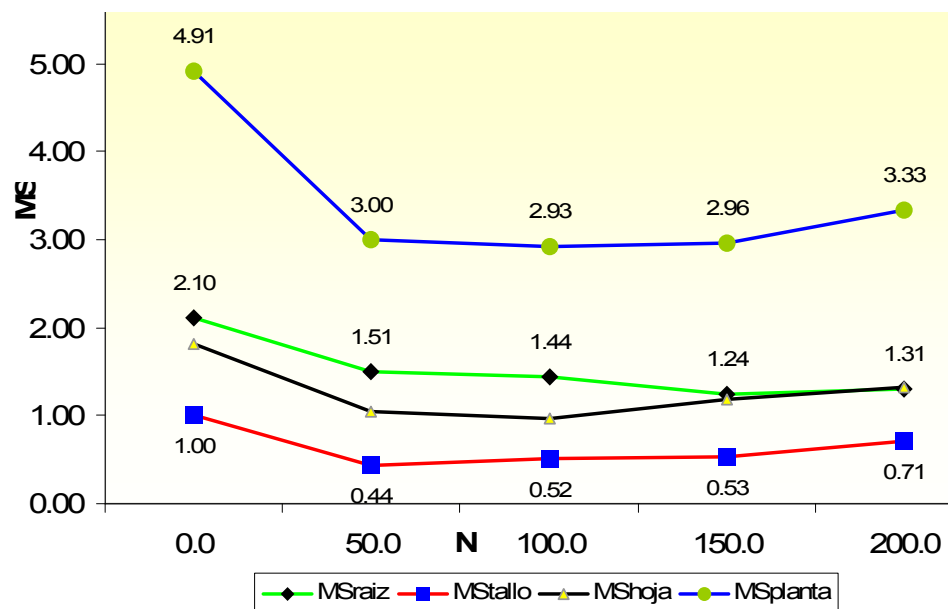


Figura 16. Producción de materia seca en órganos de la planta de trompillo.

6.11. Pb en raíz de trompillo.

Para el análisis de acumulación de Pb en raíz de trompillo, el resultado mostró que no hay diferencias significativas ya que $P > 0.05$. Además, muestra un alto coeficiente de variación de 134.66, una media de 0.9433 ppm de Pb acumulado en el órgano raíz y una R^2 de 0.42.

El análisis permitió identificar que entre bloques, dosis del N, concentración del metal e interacción Dosis de N*Concentración del Metal no hubo efectos significativos ($P > 0.05$). Numéricamente, la mayor acumulación de plomo esta dada por la concentración de 500 ppm de Pb+ 10 ppm de Cd, con una media de 1.3495ppm, **Figura 17**. Seguida de 500ppm de Pb con una media de 0.8915ppm y con la concentración de 10ppm de Cd con 0.5890ppm, sin embargo hay que destacar que al aplicar mayor cantidad de plomo y al analizar su acumulación de este metal en planta es de esperarse una mayor acumulación del mismo, pero en las 20 unidades experimentales que se le aplicó la concentración de Cd, también tuvieron una acumulación de Pb esto nos da como resultado una potencialidad de utilizar esta planta como fitoremediadora, debido a que acumula metales como el Pb y el Cd en sus órganos de la planta, resultado del contenido de este metal en el suelo.

Sin embargo, las especies *Brassica rapa* L. subsp. chinensis (L.) cv. Xinza No 1], *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek var. radiata cv. VC-3762, y (*Triticum aestivum* L. cv. Altas 66, al ser cultivadas en suelos contaminados con Pb y al aplicarle al suelo EDTA (3 mmolKg⁻¹ de suelo), incrementó significativamente la concentración de Pb en los brotes y raíz de todas las plantas (Shen *et al.*, 2002).

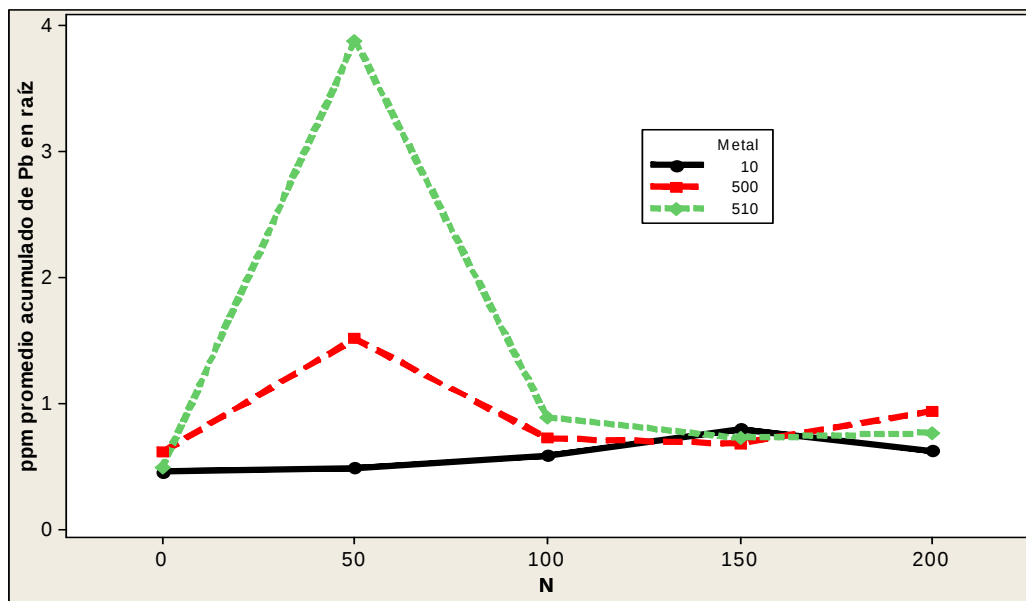


Figura 17. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en raíz de trompillo.

6.12. Pb en tallo de trompillo.

Para el análisis de acumulación de Pb en tallo de trompillo, el resultado es altamente significativo ya que $P < 0.0040$. Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 64.44. La media general fue de 1.337 ppm de acumulación de Pb en el órgano tallo y una R^2 de 0.52. El análisis permitió identificar que la concentración de metal en el suelo produjo diferencias altamente significativas ($P < 0.0088$) en la acumulación de Pb en el tallo. La fertilización nitrogenada y interacción Dosis de N*Concentración del Metal no provocaron diferencias significativas en la acumulación de plomo.

Cuando se emplearon las dosis de 500ppm de Pb y 500ppm de Pb+10ppm de Cd, se obtuvo una mayor acumulación de Pb en el órgano tallo con una media de

1.7290ppm y 1.4285ppm respectivamente, en tanto que en el suelo donde solo se agregó cadmio la media de plomo fue de 0.8550ppm (**Cuadro 13**).

Cuadro 13. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la acumulación de Pb en el órgano tallo de trompillo.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media de Pb en tallo (g)
500	0	1.7 a
500	10	1.4 b a
0	10	0.8 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

También hay que destacar que al aplicar mayor cantidad de plomo y al analizar su acumulación de este metal en planta es de esperarse una mayor acumulación del mismo, pero en las 20 unidades experimentales se le aplicaron la concentración de Cd, también tuvieron una acumulación de Pb esto nos da como resultado una potencialidad de utilizar esta planta como fitorremediadora, debido, a que acumula metales como sus órganos estructurales de la planta del trompillo, **Figura 18**.

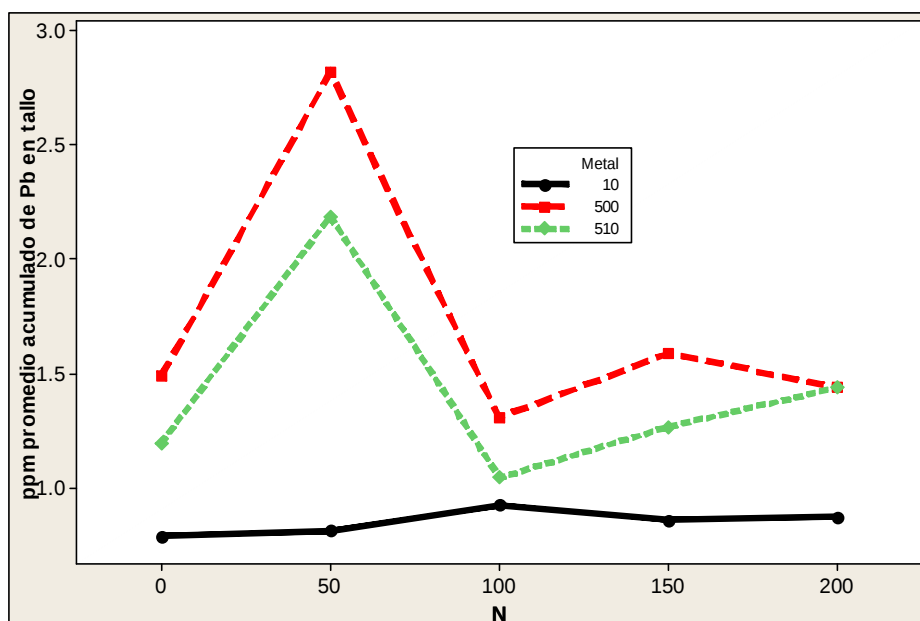


Figura 18. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en tallo de trompillo.

6.13. Pb en hoja de trompillo.

Para el análisis de acumulación de Pb en hoja de trompillo, el resultado mostró diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$). Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 65.25, una media de 2.94 ppm de Pb en hoja de trompillo y una R^2 de 0.66.

Tanto el efecto de bloques, como de concentración del metal provocaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$) en la acumulación de plomo en la hoja de trompillo. La dosis de fertilización y la interacción Dosis de N*Concentración del Metal no produjeron diferencias significativas ($P > 0.05$).

La concentración externa de metales pesados provocó una acumulación altamente significativa en las hojas de trompillo ($P < 0.001$), la mayores acumulaciones de plomo se encontraron en los tratamientos con 500ppm de plomo y en el de 500ppm de plomo + 10ppm de Cadmio, con una media de 4.4 ppm y 3.5 ppm de plomo, mientras tanto para la concentración de 10 ppm resulta una media de 0.9 ppm (Cuadro 14). Esto nos da como resultado una potencialidad de utilizar esta planta como fitorremediadora, debido a que acumula metales pesados en sus órganos, Figura 19.

Estudios realizados sobre el efecto del EDTA en el cultivo de la col (*Brassica rapa*) las concentraciones de este quelante en el suelo aumentaron significativamente las concentraciones de Pb, Zn y Cd en las hojas de las plantas. La respuesta de las planta al Pb en particular fue mejorada. Incluso solo en la adición de dosis más baja probada de EDTA (3 mmol kg⁻¹ suelo), las concentraciones de Pb en hojas eran de 16.6 veces mayor que en las plantas testigo (Gruan *et al.*, 2001.)

Cuadro 14. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de Pb en el órgano hoja.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media de Pb en hoja (ppm)
500	0	4.4 a
500	10	3.5 a
0	10	0.9 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

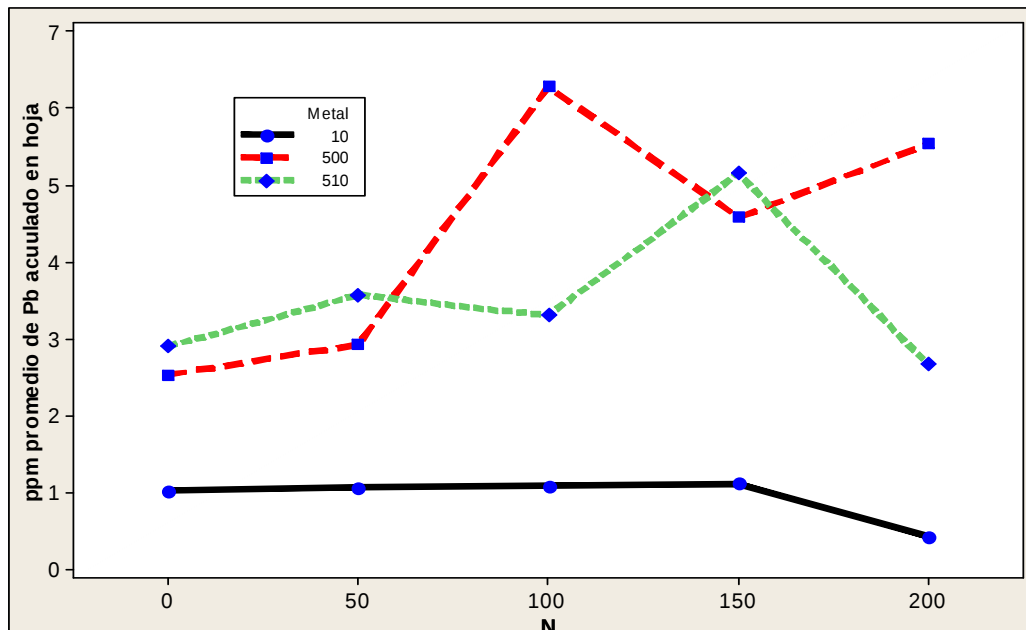


Figura 19. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en hoja de trompillo.

6.14. Pb en planta total.

Para el análisis de acumulación de Pb en planta total de trompillo, el resultado mostró diferencias significativas ya que $P < 0.0001$. Sin embargo, muestra un alto coeficiente de variación de 49.83, una media de 5.221ppm de Pb y una R^2 de 0.67. Los efectos de la concentración de dosis nitrogenada y la interacción entre ésta y la

concentración de metales pesados no fueron significativos ($P>0.05$). Mientras tanto la concentración del metal produjo diferencias altamente significativas ($P<0.0001$).

La presencia de plomo en el suelo provocó una acumulación significativamente mayor que en los tratamientos que no contenían plomo. La mayor acumulación de plomo ocurrió en los tratamientos con 500ppm con 6.9ppm, en tanto que en el tratamiento donde se aplicaron 500ppm de plomo + 10ppm de cadmio hubo una acumulación de 6.3ppm de plomo. Estos dos tratamientos fueron estadísticamente iguales (Cuadro 15). Mientras tanto la concentración de 10 ppm de Cd acumuló 2.4 ppm de Pb, lo que nos sugiere la potencialidad de utilizar esta planta como fitorremediadora, debido a que acumula metales como sus órganos estructurales, **Figura 20.** Valdez-Cepeda *et al.*, (2006), reportan altos niveles Pb y Cd en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum L.*), fertilizadas con nitrato de amonio.

Sin embargo, Rodríguez-Ortiz *et al.*, (2006) evaluó las siguientes especies: *Cenchrus ciliaris*, *Helianthus annuus*, *Ricinus communis*, *Nicotiana tabacum*, *Sorghum sudanense* y *Brassica campestris* para determinar su capacidad de acumulación de plomo de cada una de las especies, no logrando identificar ninguna de las seis especies como hiperacumuladoras. Considerando los resultados de este estudio, *Solanum elaeagnifolium* pudiera ser una planta acumuladora de Pb mas no hiperacumuladora.

Cuadro 15. Análisis del factor Concentración de Metal Pesado y su efecto en la Acumulación de Pb en el órgano hoja.

Concentración de Pb (ppm)	Concentración de Cd (ppm)	Media de Pb en planta total (ppm)
500	0	6.9 a
500	10	6.3 a
0	10	2.4 b

Cifras con las mismas letras dentro de una misma columna, son estadísticamente iguales. Prueba de rango múltiple de medias Tukey $\alpha \leq 0.05$

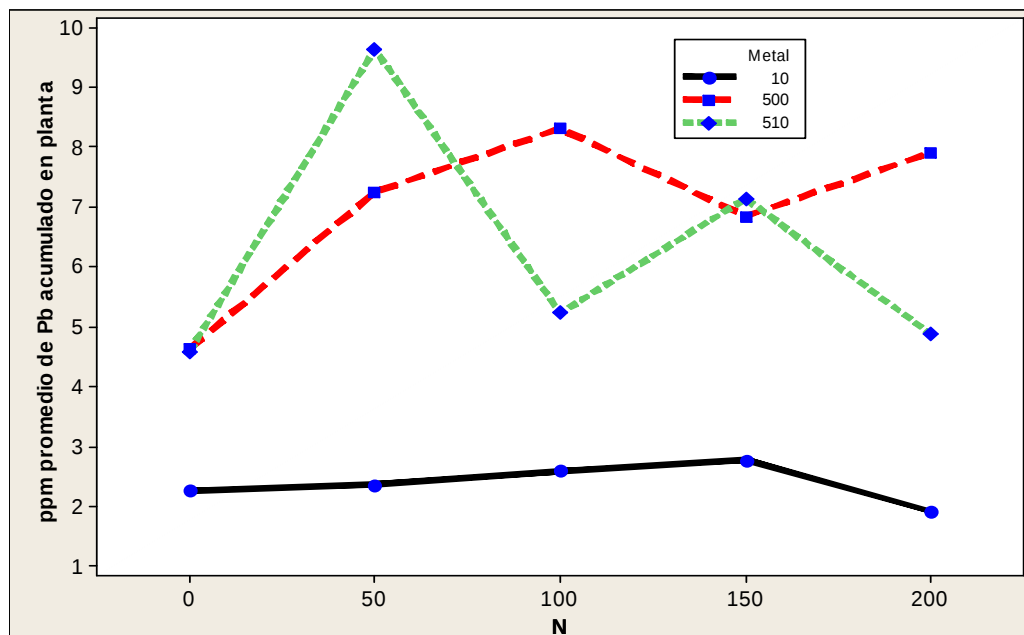


Figura 20. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Pb en planta de trompillo.

6.15. Comportamiento de plomo en los órganos de la planta trompillo.

En la **Figura 21**, se muestra la relación que existe entre la concentración de plomo y la dosis nitrogenada a la que fue sometido cada tratamiento mostrando que no hay diferencias significativas entre la dosis nitrogenada. Sin embargo, el tratamiento con 50 ppm de N es la que tuvo la máxima acumulación de Pb en planta total con 6.4ppm. Además, hay que diferenciar por órgano vegetal de la planta trompillo acumuló más Pb fue la hoja con un rango de 2.2 a 3.6ppm de Pb acumulado aunque no hay diferencias significativas en las concentraciones de 100 y 150 ppm de N es donde acumulo mas Pb.

Se observa que la acumulación de plomo esta dada de manera creciente comenzando por la raíz, tallo y hoja, esto podría ser indicativo que las raíces del trompillo no tienen mecanismos para acumular el plomo en la raíz y que la mayor parte del metal

que es absorbido es transportado hacia la parte aérea de la planta, de tal manera que las mayores concentraciones ocurren en las hojas.

En el 2001, Vázquez-Alarcon *et al.*, investigaron la dinámica de Cd, Ni y Pb, para diagnosticar el proceso de acumulación y variabilidad en las concentraciones de cada uno de los metales en agua y suelo, en las especies maíz (*Zea mays* L), trigo (*Triticum aestivum*) y alfalfa (*Medicago sativa*), especies de gran importancia económica, realizado en el Valle del Mezquital, Hidalgo, encontrando que el primer metal se acumula anualmente en el suelo de 384 a 640 g ha⁻¹, considerada como una tasa alta, se observó que el Cd y Ni, se acumulan en el grano de trigo, lo que indica un riesgo potencial para la salud de los organismos consumidores, mientras que el Pb, permanece en el follaje de trigo.

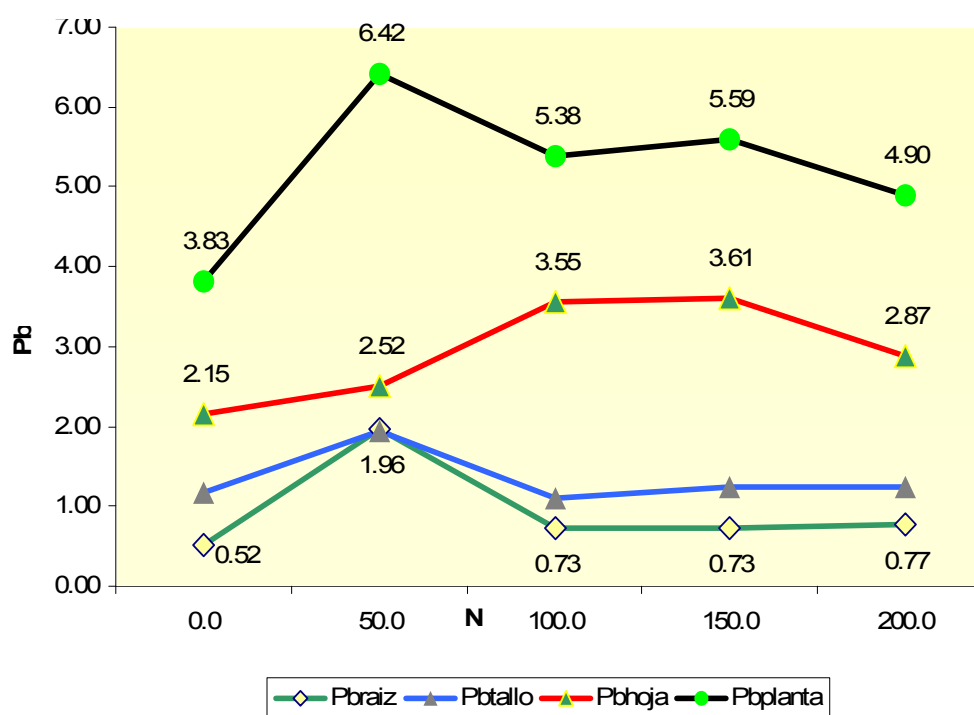


Figura 21. Acumulación de Pb en órganos de la planta trompillo.

Comparando los niveles que reporta Trejo *et al.*, (2007), las concentraciones de plomo en plantas nativas evaluadas *in situ* se ubicaron en un rango de 8.25 a 823.0

ppm, en las que se identificaron al menos siete especies vegetales acumuladoras de plomo. Las especies con potencial de uso para la fitoextracción de plomo de suelos contaminados incluyen las siguientes especies *Drymaria arenaroides*, *Trifolium pratense* y *Solanum elaeagnifolium*, dado que son plantas anuales y de rápido crecimiento. Los valores máximos encontrados en las plantas totales de trompillo (*Solanum elaeagnifolium*), fue del rango de 92.75 a 134ppm de Pb, concentraciones mayores a las encontradas en este trabajo. Hay que considerar que ese trabajo fue realizado en plantas in situ y no se consideró el tiempo total de crecimiento de las mismas ya que aunque se comportan como anuales sus raíces quedan bajo el suelo y esto permite acumular la mayor cantidad de Pb del suelo contaminado.

En otro trabajo con especies de plantas que crecen y se desarrollan en sitios contaminados *Prosopis glandulosa*, *Salsola kali*, *Cevallia sinuata* y *Solanum elaeagnifolium* (Sias *et al.*, 1998), todas las plantas fueron separadas en sus diferentes órganos hoja, tallo y raíz, mostraron que *Solanum elaeagnifolium* y *Cevallia sinuata* fueron las que absorbieron mayores cantidades de Cu y Pb. Los niveles encontrados de plomo en raíz, tallo y hoja de *Solanum elaeagnifolium* fueron de 1875ppm, 97ppm, 380ppm, respectivamente y las concentraciones de Pb en *Cevallia sinuata* en raíz, tallo y hojas fue de 578ppm, 44ppm y 157ppm, respectivamente.

Estos datos muestran que por ser un metal pesado y de poca movilidad donde mayor se acumula es en raíz (Sias *et al.*, 1998). Comparado con la acumulación de metales que se encontraron en el presente estudio clarifica que al utilizar una fuente de plomo muy soluble $[Pb(NO_3)_2]$, el cual es muy factible que se incorpore rápidamente al flujo de transpiración de la planta y por ende se acumule más en las hojas, provocando, de alguna manera, un decremento de la tasa fotosintética (**Figura 22**).

Por lo tanto, el potencial de fitoextracción de Pb es limitado primeramente debido a la baja movilidad en el suelo y es poco propenso a ser absorbido (Lasat, 2002). Recientes investigaciones han inducido artificialmente la absorción de Pb de suelos sólidos. Varios agentes quelatantes han sido probados para propuesta. La adición de EDTA (ácido tetraacético-diamino-etileno) a menudo se ha recomendado por ser el más eficaz, por ejemplo, una concentración de 10 mmolKg^{-1} de suelo, estimuló la acumulación de Pb en maíz a altos niveles de 1.6% en peso seco de brotes (Blaylock *et al.*, 1997; Lasat, 2002).

El plomo tiene efectos nocivos sobre el crecimiento. Si bien al principio de una aplicación el crecimiento se intensifica, a partir de los 5ppm se produce un considerable retraso del crecimiento acompañada de decoloración y anomalías morfológicas (UBA, 1976).



Figura 22. Planta de trompillo con efecto de estrés.

La fotosíntesis, la respiración y otros procesos de intercambio metabólico se ven perturbados. Finalmente, el plomo inhibe la asimilación de nutrientes esenciales del suelo. El crecimiento de las plantas superiores sólo se ve afectado en forma reducida

por el Pb^{++} . En términos generales la calidad se deteriora más que la cantidad producida y, en comparación con los efectos sobre el ser humano, la fitotoxicidad del plomo es relativamente baja.

Según Chi-Ying *et al.*, (1974) en los experimentos realizados en invernadero, encontraron que el Pb y Cd inhiben el metabolismo de las plantas de Soya (*Glycine max* L), teniendo una reducción en el desarrollo de las raíces y la producción de biomasa, ya que los procesos afectados tienen interdependencia con la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno. Mediante el experimento se indica que los metales pesados pueden afectar el crecimiento y el rendimiento en las áreas agrícolas que se encuentran cercanas a autopistas, ciudades e industrias.

6.16. Cd en raíz de trompillo.

Para el análisis de acumulación de Cd en raíz de trompillo, el resultado no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$). Además, muestra un alto coeficiente de variación de 120.33, una media de 0.078ppm de acumulación de Cd y una R^2 de 0.24. En cuanto a que el análisis permitió identificar que entre bloques, el factor dosis de N, el factor concentración del metal, y la interacción Dosis de N*Concentración del Metal no fue significativo $P < 0.6476, 0.1939, 0.8710$ y 0.7328 respectivamente.

Para el factor dosis de N y su efecto en la acumulación de Cd en raíz, el análisis de la prueba de medias no son significativamente diferentes arrojando una media de 0.13792gr para una dosis de N de 100ppm de N, seguido de 0.07675ppm con una dosis de N de 50ppm,. Mientras tanto para el factor Concentración del Metal Pesado todas las unidades experimentales no son significativamente diferentes, con la

concentración de 510ppm de Pb+Cd, 500ppm de Pb, y 10ppm de Cd, se obtuvo una media de 0.08390ppm, 0.08155ppm y 0.06930ppm, respectivamente.

En una evaluación con semillas de Trigo (*Triticum durum*), se observó que el aumento de las dosis de Cd, tiene efectos en la absorción de potasio y nitratos, disminución de la tasa de transpiración y del crecimiento radicular, y un efecto de gran importancia es la reducción de los contenidos de citocininas, que da como resultado una afectación en las hormonas (Vázquez-Alarcon *et al.*, 2001).

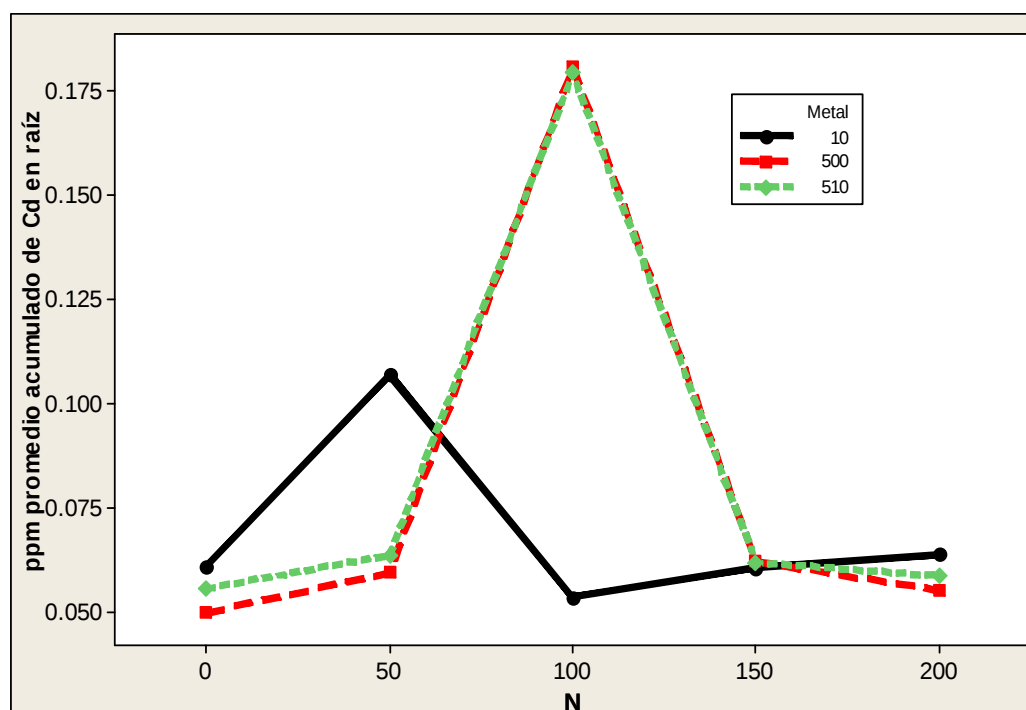


Figura 23. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Cd en raíz de trompillo.

6.17. Cd en tallo de trompillo.

Para el análisis de acumulación de Cd en tallo de trompillo, el resultado no mostró diferencias significativas ya que $P < 0.6289$. Además, muestra un alto coeficiente de variación de 104.95, una media de 0.0785 ppm de Cd y una R^2 de 0.25.

En cuanto a que el análisis permitió identificar que entre bloques, el factor dosis de N, el factor concentración del metal, y la interacción Dosis de N*Concentración del Metal no fue significativo $P < 0.3243, 0.3340, 0.8887$ y 0.6528 respectivamente.

el factor Concentración del Metal Pesado no provocó una acumulación significativamente diferente. (Figura 24).

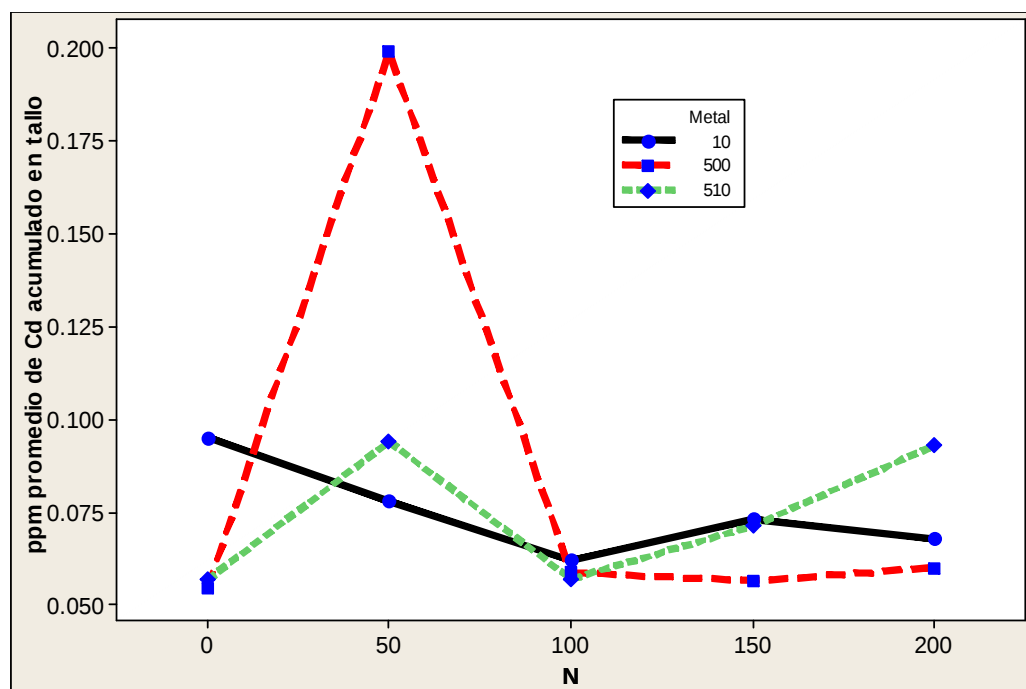


Figura 24. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Cd en tallo de trompillo.

6.18. Cd en hoja de trompillo.

Para el análisis para la acumulación de Cd en hoja de trompillo, el resultado no mostró diferencias significativas ya que $P < 0.3668$. El análisis permitió identificar que entre bloques, el factor dosis de N, el factor concentración del metal, y la

interacción Dosis de N*Concentración del Metal no fue significativo ($P>0.05$) (Figura 25).

Se ha demostrado que la adición de fertilizantes al suelo puede provocar un incremento en la fitoextracción de metales pesados por plantas acumuladoras. Por ejemplo, la urea incrementa el cadmio intercambiable y soluble en agua del suelo, probablemente a través de la acidificación (Brown *et al.*, 1994). Como el ion amonio puede provocar la desorción de metales pesados de los sitios de intercambio o de los coloides del suelo mediante intercambio de iones y así facilitar la absorción por la plantas (Lorenz *et al.*, 1994). Estos estudios contrastan con los resultados obtenidos en este trabajo.

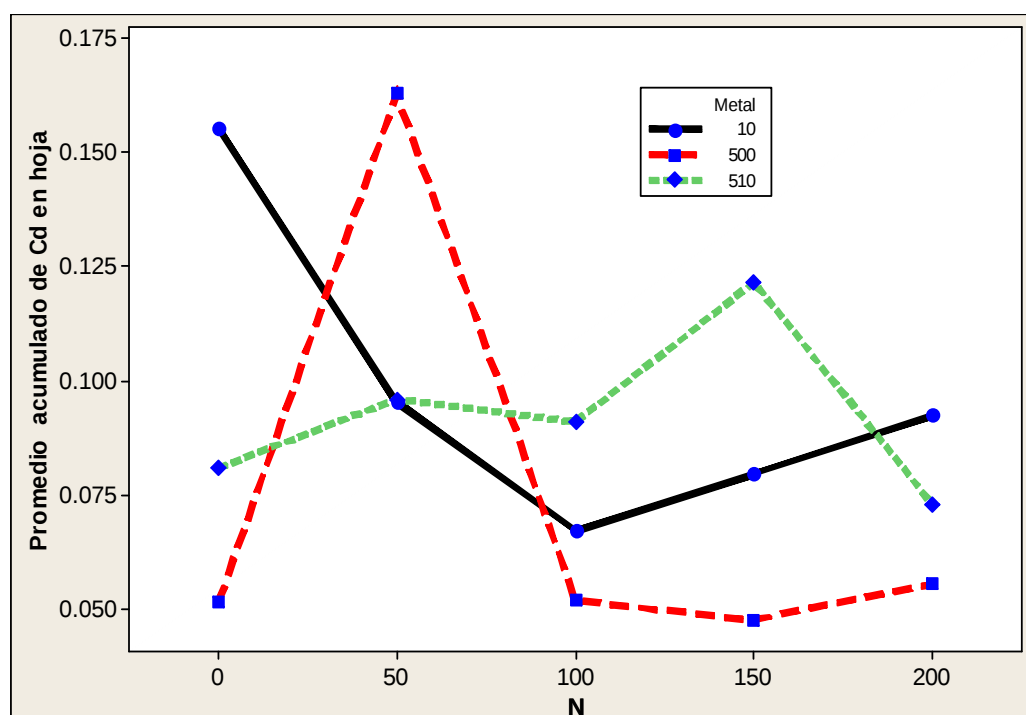


Figura 25. Efecto de interacción entre la Dosis de N (0, 50, 100, 150 y 200 ppm) y concentración del metal pesado (10 ppm Cd, 500 ppm de Pb y 500 ppm de Pb + 10 ppm Cd) en la acumulación de Cd en hoja de trompillo.

6.19. Cd en planta total de trompillo

El análisis de acumulación de Cd en planta de trompillo no mostró diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos, con un alto coeficiente de variación de 52.52, una media de 0.2448 ppm de Cd y una R^2 de 0.31.

Particularmente, el análisis permitió identificar que entre bloques, dosis de N, concentración del metal y la interacción Dosis de N*Concentración del Metal el efecto no fue significativo ($P< 0.6954$, $P<0.1802$, $P<0.9682$ y $P<0.2251$, respectivamente).

Bennet *et al.*, (1998), reportan un decremento en las concentraciones de Ni y Zn en plantas hiperacumuladoras de *Alyssum bertolonii* Nyar y *Thlaspi caerulescens* cuando aplican 100 mg de N Kg⁻¹ de suelo Sin embargo otros autores reportan un efecto opuesto (Lorenz *et al.*, 1994, Mitchell *et al.*, 2000, Kulli *et al.*, 1999, reportados por Valdez–Cepeda *et al.*, 2006).

6.20. Comportamiento de cadmio en los órganos de la planta trompillo.

En la **Figura 26**, se muestra la relación que existe entre la concentración de cadmio y la dosis nitrogenada a la que fue sometido cada tratamiento mostrando que no hay diferencias significativas entre los tratamientos de dosis nitrogenada. Numéricamente Sobresalió el tratamiento de 50 ppm de N por kilogramo de suelo para la acumulación de Cd en planta total, con 0.32ppm de Cd acumulado. Sin embargo hay que diferenciar que el órgano vegetal de la planta trompillo que acumuló ligeramente más Cd fue la hoja con un rango de 0.07008 a 0.118ppm de Cd.

Se observa que la acumulación de cadmio esta dada de manera creciente de menor acumulación a mayor acumulación comenzando por la raíz, tallo y hoja, esto nos presume que en el proceso de transpiración de la planta tiene un efecto de arrastre del metal en forma ascendente por ello esta acumulado mas en el órgano hoja.

De la Rosa-Alvarez *et al.*, (2005) investigaron la habilidad del médano o rodadora (*Salsola Cali*) para absorber y acumular cadmio de un medio contaminado con dicho metal. Los resultados indicaron que cuando el médano crece por un periodo de quince días en agar contaminado hasta con 20 mg Cd L⁻¹, las plantas acumularon 2696, 2075, y 2016 mg Cd kg⁻¹ de peso seco en raíz, tallo y hojas, respectivamente.

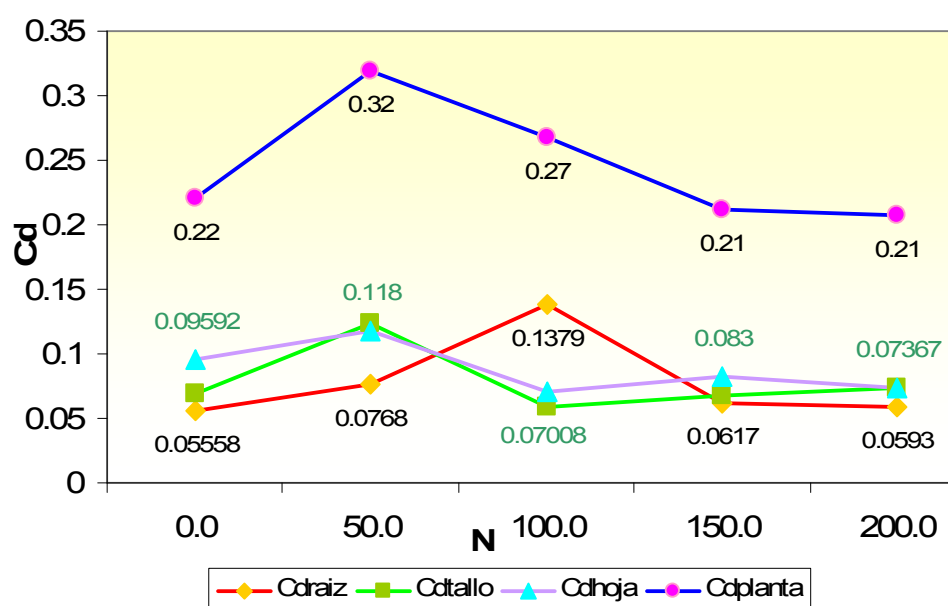


Figura 26. Acumulación de Cd en órganos de la planta trompillo.

6.21. Análisis de componentes principales.

Todos los resultados previos de tasa fotosintética evaluadas en la planta trompillo *Solanum elaeagnifolium*, resultan de un sistema complejo. Para simplificar las

posibles relaciones que interactúan entre las variables, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) con un a base de datos de 54 observaciones, para tasa fotosintética y 60 observaciones para 17 variables interactuantes.

El análisis multivariado es empleado para detectar la interdependencia entre las variables y también entre individuos, se utilizó el análisis de componentes principales permitiendo la estructuración del conjunto de datos multivariados, obtenidos de una población cuya distribución de probabilidades no necesita ser conocida (Pla E., 1986). Por lo tanto es una técnica matemática que no necesita un modelo estadístico para explicar la estructura probabilística de los errores.

El ACP basado principalmente en una transformación lineal de las observaciones originales, conocida en el algebra vectorial como generación de vectores y valores propios, o también vectores y valores característicos. Durante el ACP se obtuvo los valores propios y las varianzas asociadas de los primeros 4 componentes principales explicando el 62.58% de la varianza acumulada (**Cuadro 16**).

Cuadro 16. Valores propios y varianzas asociados a 4 componentes principales.

CP	Valor propio	% Varianza total	Valor propio acumulado	% varianza acumulada
1	5.06	26.62	5.06	26.62
2	2.72	14.33	7.78	40.96
3	2.18	11.48	9.96	52.43
4	1.93	10.15	11.89	62.58

El primer componente principal (CP) explica al menos el 26.62% de la varianza total (**Cuadro 17**). Este componente se correlaciona de manera negativa con las variables Cd, MS en tallo, MS en hoja, MS en planta y se correlaciona de forma positiva con las variables Pb hoja. Estos resultados sugieren que a mayor concentración de Cd, las variables MS tallo, MS hoja, MS planta, acumulan más Cd en sus órganos y baja la concentración de Pb en hoja. Sin embargo en un trabajo de *Nicotiana tabacum* L.

muestra que a mayor concentración de Pb puede afectar la concentración y acumulación de Cd (Valdez-Cepeda *et al.*, 2006).

El segundo CP explica al menos el 40.96% de la varianza acumulada, mostrando una correlación negativa con las variables concentración Pb y de manera positiva las variables concentración de Pb+Cd, indicando que al haber una mayor concentración de plomo hay un decremento para la acumulación de la concentración Pb + Cd en los tratamientos.

En el tercer CP se explica el 52.43% de la varianza acumulada, muestra una correlación negativa en la variable Pb tallo, Cd hoja, indicando que a medida que aumenta la concentración de Pb en tallo, también se incrementa la acumulación de Cd en hoja.

El cuarto CP se explica el 62.58% de la varianza acumulada, presenta una correlación positiva con Cd tallo y Cd en planta total, indicando que al incrementarse la acumulación en tallo se incrementa la acumulación de Cd en planta total.

Cuadro 17. Coeficientes de correlación entre las variables y los 4 componentes principales.

Variable	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4
Dosis N	0.31	0.29	0.30	-0.15
Concentración Pb	0.46	-0.81	0.01	-0.03
Concentración Cd	-0.74	-0.04	0.12	0.03
Concentración Pb+Cd	0.29	0.84	-0.13	-0.01
Fotosíntesis	0.12	0.06	0.10	0.00
Fotosíntesis residual	-0.01	0.22	-0.02	0.02
MS raíz	-0.67	0.00	0.18	0.23
MS tallo	-0.80	-0.08	-0.12	-0.16
MS hoja	-0.84	-0.01	-0.05	-0.17
MS planta	-0.93	-0.03	0.05	0.02
Pb raíz	0.13	0.18	-0.65	-0.05
Pb tallo	0.39	-0.12	-0.82	-0.02
Pb hoja	0.71	-0.09	-0.16	0.08
Pb planta	0.67	-0.03	-0.60	0.03
Cd raíz	0.10	0.12	0.09	0.57
Cd tallo	0.05	-0.13	0.07	0.72
Cd hoja	-0.14	0.01	-0.77	0.14
Cd planta	0.03	0.00	-0.26	0.92
Varianza explicada	4.75	2.57	2.35	1.87
Proporción varianza total	0.25	0.14	0.12	0.10
%varianza acumulada	26.62	40.96	52.43	62.58

VII. CONCLUSIONES

El suelo utilizado como sustrato, basándose en el método de Bouyoucos de acuerdo a la norma (AS-02 NOM-021-RECNAT-2000), tiene una clave C y la clase de textura de un suelo Franco.

No hubo diferencias significativas en la tasa fotosintética por efecto de las concentraciones de metal en el suelo o la fertilización nitrogenada.

La fertilización nitrogenada no provocó una mayor acumulación de materia seca en las plantas de trompillo (*S. elaeagnifolium*).

La adición de fertilizante nitrogenado al suelo no produjo una mayor acumulación de metales pesados (Pb y Cd) en los órganos de la planta de trompillo.

La acumulación de plomo en los órganos en particular y en la planta en general fue muy baja considerando los resultados obtenidos en otros estudios.

Las plantas de *S. elaeagnifolium* crecidas en suelo contaminado con plomo acumularon una significativamente mayor concentración de este metal comparadas con las plantas crecidas en ausencia del mismo.

La contaminación de Cd en el suelo no produjo una acumulación significativamente mayor en la planta de trompillo.

Las concentraciones de metales pesados como el caso del plomo en vegetación in situ fue superior a la concentración obtenida en plantas crecidas en invernadero.

VII. RECOMENDACIONES

Es necesario hacer más estudios sobre fitoextracción con plantas silvestres que se desarrollan en las áreas aledañas de fuentes de contaminación como la planta fundidora Met-Mex Peñoles en Bermejillo.

Hacer un estudio mas minucioso in situ para verificar la eficacia del trompillo para fitoextracción de Pb y Cd en suelo.

Indudablemente son necesarias medidas que eviten o reduzcan la presencia de plomo en suelo y por lo tanto reduzcan los riesgos para la salud de los habitantes de la comunidad, en los animales y el disturbio de ecosistemas naturales.

VIII. LITERATURA CITADA.

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2004. Toxicological Profile Information Sheet. Disponible en Internet en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2005. Division of Toxicology. ATSDR Information Center: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html#bookmark05>.
- Alarcón Herrera M. T y Flores Tavizón E. 2005. Plantas tolerantes al arsénico y plomo. Publicación semestral de investigación científica. Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Agricultura y Zootecnia Venecia, Dgo. Méx. Vol. 5. N° 1.
- Albert Lilia A. 2004. Met Mex Peñoles y los niños de Torreón. Retel: Revista de Toxicología Local. Recuperado el 15 de diciembre del 2006 en: <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>.
- Alexander, M. 1994. Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, San Diego. 302 pp.
- Alscher, R. G., Erturk N. y Heath L. S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants .J. Exp. Bot. 53: 1331-1341. (doi:10.1093/jexbot/53.372.1331).
- Altschul, S. F., Thomas L. M., A. Schäffer, Zhang J., Zhang Z., Miller W. y J. Lipman; 1997. "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.
- Alvarado, Z. A. 2000. Conoce la biodiversidad de México. UNIVERSUM-UNAM (En línea). Revista digital universitaria. Vol 1. Num. 2. Cd. Universitaria. D.F. Recuperado el 18 de septiembre del 2004. (<http://www.revista.unam.mx/vol.1/num2/sabias/>).
- Assadian N. W., Esparza L. C., Fenn L. B., Ali A. S., Miyamoto S., Figueroa U. V y Warrick A. W. 1998. Spatial variability of heavy metals in irrigated alfalfa fields in the upper Rio Grande River basin. Agricultural Water Management 36 pag. 141-156.
- Basta N. T., Gradwohl R., Snethen K. L. and Schroder J. L. 2001. Chemical Immobilization of Lead, Zinc, and Cadmium in Smelter-Contaminated Soils Using Biosolids and Rock Phosphate. J. Environ. Qual. 30:1222–1230.
- Beyer, W.N. 2000. Hazards to wildlife from soil-borne cadmium reconsidered. J. Environ. Qual. 29:1380–1384.
- Beyer, W.N., D.J. Audet, A. Morton, J.K. Campbell, and L. LeCaptain. 1998. Lead exposure of waterfowl ingesting Coeur d'Alene River Basin sediments. J. Environ. Qual. 27:1533–1538.
- Blaylock, M.J., D.E. Salt, S. DuShenkov, O. Zakharova, and C. Gussman. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environ. Sci. Technol. 31:860–865.
- Bonnet, M., Camares, O. y Veisseire, P. 2000. Effects of zinc and influence of Acremonium lolii on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (Lolium perenne L. cv Apollo). Journal of Experimental Botany 51(346):945-953.
- Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S. Baker, A.J.M. 1994. Phytoremediation potential of thlaspi caerulescens and bladder campion for zinc and cadmium contaminated. Soil. J. Environ. Qual. 23:1151-1157

- Brown Sally, Chaney Rufus, Hallfrisch Judith, Ryan James A. and Berti William R. 2004. In Situ Soil Treatments to Reduce the Phyto- and Bioavailability of Lead, Zinc, and Cadmium. Published in J. Environ. Qual. 33:522–531
- Burke, S.C., J.S. Angle, R.L. Chaney, and S.D. Cunningham. 2000. Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. Int. J. Phytol. 2:23–29.
- Chen, Z., Silva H. y Klessig, D. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science 262:1883-1886.
- Chaney R. L. M. Malik, Y. M. Li, S. L., Brown, E. E. Brewer, J. S. Angle, and A. J. M. Beker, 1997. Phytoremediation of soil metals. Curr. Opin. Biotechnol. 8:279–284.
- Chang Y., H. M. Seip, and H. Vennemo, 2001. The environmental cost of water pollution in Chongqing, China. Environ. Develop. Econ. 6:312-313.
- Chaparro, J., Esteve, M.A. 1996. Criterios para restaurar la vegetación en ambientes mediterráneos semiáridos. Quercus 121, 14-17.
- Cobbett, C.S. 2000. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiology 123:825-832
- Codling, E.E., and J. C. Ritchie, 2005. Eastern gamagrass uptake of lead and arsenic from lead arsenate contaminated soil amended with lime and phosphorus. Soil Sci. 170 (6): 413-423.
- Copaja, S.V. et al (1997) Estudios en bioremediación: Descontaminación de Aire de Interiores por Plantas de la Flora Chilena. Primer Congreso Latinoamericano de Química Ambiental, Chile.
- Costello, C. 2003. Acid mine drainage: innovative treatment technologies. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Solid Waste and Emergency Response/Technology Innovation Office. Washington, DC. 47 pp. Disponible en Internet en: www.clu-in.org.
- Csuros, M y C. Csuros. 2002. Environmental sampling and analysis for metals. Lewis Publisher. 372 pp.
- Cunningham S C, Berti W R and Huang J W 1995 Remediation of contaminated soils and sludges by green plants. In Bioremediation of Inorganics. Ed. E Hincsee, J L Means and D Burris. Pp 33–54. Batelle Press, Columbus-Richland.
- Cunningham, S.D. y Ow, D.W. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. Plant Physiology 110:715-719.
- Del Río, L., Corpas J., Sandalio L., Palma J., Gómez M., y Barroso J. 2002. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomas. J. Exp. Bot. 2002 53: 1255-1272 (doi:10.1093/jexbot/53.372.1255)
- Desikan, R., Hancock J., Bright J., Harrison J., Weir I, Hooley R. y Neill S. 2005. A Role for ETR1 in Hydrogen Peroxide Signaling in Stomatal Guard Cells. Plant Physiol. 137: 831-834.
- Desmarchelier, C. y Ciccía G. 1998. Antioxidantes de origen vegetal. CIENCIA HOY. Volumen 8 (44).
- Dopazo, J. y Carazo JM. 1997. Phylogenetic reconstruction using an unsupervised growing neural network that adopts the topology of a phylogenetic tree. J. Mol. Evol 44:226-233.
- Dopazo J. y Valencia, A. 2002. Bioinformática y genómica. Mundi-Prensa. Junta de Andalucía Consejería y Pesca. Madrid, España.
- Draper N.R. and Smith H. (1981). *Applied Regression Analysis*, Second Edition. John Wiley & Sons, Inc.

- Dutilleul, C, Garmier M, Noctor G, Mathieu C, Chétrit P, H. Foyer, C. y Rosine, de Paepe. 2003. Leaf Mitochondria Modulate Whole Cell Redox Homeostasis, Set Antioxidant Capacity, and Determine Stress Resistance through Altered Signaling and Diurnal Regulation. *The Plant Cell*, Vol. 15, 1212–1226. Recuperado en junio del 2004. www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=153727&rendertype=abstract.
- Dixit, V., Pandey, V y Shyam, R. 2000. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *Journal of Experimental Botany* 52(358):1101-1109.
- Duffus, J.H. 2001. “Heavy Metals”- A Meaningless Term. *Chemistry International*.23 (6). Disponible en: <http://www.iupac.org/publications/ci/2001/november/heavymetals.html>.
- Environmental Protection Agency (EPA), 2000. Introduction to Phytoremediation. EPA/600/R-99/107. Cincinnati, Ohio 45268
- Epstein A L, Gussman C D, Blaylock M J, Yermiyahu U, Huang J W, Kapulnik Y, Orser C S 1999 EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant and Soil* 208, 87–94.
- Ernst, W.H.O. 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soil by plants. *Appl. Geochem.* 11:163–167.
- Evanko, C.R. y D.A. Dzombak. 1997. Remediation of metals-contaminated soils and groundwater. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center (GWRTAC) “E” Series Report. 53 pp. Disponible en Internet en: http://www.gwrtac.org/html/tech_eval.html#METALS.
- Eweis, J.B., S.J. Ergas, D.P. Chang y E.D. Schroeder 1998. *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.
- Fendorf Scott, Matthew J. La Force Matthew J. and Li Guangchao, 2004. Heavy Metals in the Environment Temporal Changes in Soil Partitioning and Bioaccessibility of Arsenic, Chromium, and Lead. Published in *J. Environ. Qual.* 33:2049–2055.
- Fuentes Lara L. O., Mellado Bosque M., García Martínez J. E., y Cervantes F. J. 2005. Relación entre el nivel de inclusión de Trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) en la dieta y el consumo voluntario de cabras en crecimiento. Dpto. de Nutrición y alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Dirección de investigación.
- García O. C. N., Trejo C. R., Arreola A. J. G., Flores H. A. 2006 Determinación espacial de las concentraciones de plomo en suelo y vegetación del área de Bermejillo, Dgo
- Grčman, H., Velikonja-Bolta, Š., Vodnik, D., Kos, B., & Leštan, D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.. *Plant and Soil* 235: 105–114, 2001.
- Green C. H., Heil D. M., Cardon G. E., Butters G. L. and Kelly E. F. 2003. Heavy Metals in the Environment. Solubilization of Manganese and Trace Metals in Soils Affected by Acid Mine Runoff. *J. Environ. Qual.* 32:1323–1334.
- Greenberg M. I., 1997, *Occupational, Industrial, and Environmental Toxicology*, Mosby Year Books, Inc., St. Louis.
- Gutiérrez, M. 2003. Minería Unión de Grupos Ambientalistas (UGAM). Disponible en Internet en: <http://www.union.org.mx/guia/actividadesyagravios/mineria.htm>.
- Gutiérrez, M.E. y M. Moreno. 1997. Los residuos en la minería mexicana. INE, México. Disponible en Internet en: http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/35/los_residuos.html?id_pub=35.

- Haag-Kerwer, A., Schafer, H.J., Heiss, S., Walter, C. y Rausch, T. 1999. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 50(341):1827-1835.
- Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53(366):1-11.
- Heiss, S., Watcher, A., Bogs, J., Cobbett, C. y Rausch, T. 2003. Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure. *Journal of Experimental Botany* 54(389):1833-1839.
- Hernández Martínez J. E. 2004. Ordenamiento ecológico territorial del Municipio de Mapimí, Dgo. Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional universitaria de Zonas Árida. Bermejillo, Dgo. Tesis.
- Hernández y Martínez, 2006. Biorremediación: un camino en la prevención y atención al daño del ambiente. Instituto de investigaciones biológicas, universidad veracruzana
- Hettiarachchi G. M, Pierzynski G. M. and Ransom M. D. 2001. In Situ Stabilization of Soil Lead Using Phosphorus. *Publisher in J. Environ. Qual.* 30:1214–1221.
- Huang, J.W., J. Chen, W.R. Berti, and S.D. Cunningham. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soil: Role of synthetic chelates In lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31:800–805.
- Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARN), Instituto Nacional de Ecología (INE), 2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Editorial del Deporte Mexicano, México, D.F.
- J.F. Rosen. 1992. Effects of Low Levels of Lead Exposure, *Science* 256. pg. 294.
- Khan A G, Kuek C, Chaudhry T M, Khoo C S and Hayes W J 2000 Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41, 197–207.
- Kidd, P.S. y Proctor, J. 2000. Effects of aluminium on the growth and mineral composition of *Betula pendula* Roth. *Journal of Experimental Botany* 51(347):1057-1066.
- Kirkham, M.B. 2000. EDTA-facilitated phytoremediation of soil with heavy metals from sewage sludge. *Int. J. Phytol* 2:159-172.
- Köhl, K.I. 1997. Do *Armeria maritime* (Mill.) Willd. Ecotypes from metalliferous soils and non-metalliferous soils differ in growth response under Zn stress? A comparison by a new artificial soil method. *Journal of Experimental Botany* 48(316):1959-1967.
- Larison, J.R., G.E. Likens, J.W. Fitzpatrick, and J.G. Crock. 2000. Cadmium toxicity among wildlife in the Colorado Rocky Mountains. *Nature (London)* 406:181–183.
- Lasat Mich M., 2000. Phytoextraction of metals from contaminated soil: A Review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *J. Hazardous Substance Res.* 2 (5): 1-25.
- Lasat Mich M., 2002. Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms. *J. Environ. Qual.* 31:109–120.
- Licona V. A., Duch G. J. y Larios R. J. 1994. Aprovechamiento de los recursos naturales en la agricultura mexicana. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de centros regionales. Programa de recursos naturales y agricultura. Chapingo, México.
- Lorenz, S.E., Hamon, R.E., McGrath, S.P., Holm, P.E. y Christensen, T.H. 1994. Applications of fertilizer cations affect cadmium and zinc concentrations in soil solution and uptake by plants. *Eur. J. Soil Sci.* 45:159-165
- Meagher R B 2000 Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3(2), 153–162.
- Melgoza Castillo A; Morales Nieto C. R., Sierra Tristán J. S., Royo Márquez M. H., Quintana Martínez G., Lebgue Keleng T., 2006. Manual práctico para la

- identificación de las principales plantas en los agostaderos de Chihuahua. Fundación Produce Chihuahua, Unión Ganadera Regional de Chihuahua, INIFAP, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Méx.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. y Dietz, K-J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology* 132:272-281.
- Neter J., Wasserman W., and Kutner M. (1985). *Applied Linear Statistical Models*. Richard D. Irwin, Inc.
- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51: 730-750.
- Pätsikkä, E., Kairavuo, M., Sersen, F., Aro, E-M. y Tyystjärvi, E. 2002. Excess Koper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll. *Plant Physiology* 129:1359-1367.
- Pitchell, J., K. Kuroiwa, and H.T. Sawyer. 1999. Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated soils. *Environ. Pollut.* 110:171-178.
- Pla E. Laura. 1986. Análisis multivariado: Método de Componentes Principales. Dto. De Producción Vegetal. Área de ciencias del Agro y del Mar. Universidad Nacional Experimental Francisco Miranda. Secretaria de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo científico y Tecnológico. Washington, D.C. 1986.
- Quero J. L., Marañón T., Villa R., 2004. Tasas de fotosíntesis en plántulas de alcornoque y roble en distintos micrositios dentro del sotobosque. Área de Ecología, Universidad de Córdoba Dpto. Biología Animal y Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada IRNA, CSIC.
- Raskin, I., P.B.N.A. Kumar, V. DuShenkov, and D.E. Salt. 1994. EDTA and Pb-EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-amended soil. *Plant Soil* 208:87-94.
- Raskin, I., Smith, R.D. and Salt, D.E. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. opinion Biotech* 8:221-226.
- Salud ambiental. 1999. Criterios para la determinación de los niveles de concentración de plomo en la sangre. Acciones para proteger la salud de la población no expuesta ocupacionalmente. Métodos de prueba” Norma Oficial Mexicana NOM-EM-004-SSA1-1999. Diario Oficial de la Federación. Primera sección, pp. 71-82.
- Salt, D.E., Smith.R.D. and Raskin, I. 1998 Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643-668.
- Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gómez, M., Romero-Puertas, M.C. y del Río, L.A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany* 52(364):2115-2126.
- Sánchez, L.E. 1995. Manejo de residuos sólidos en minería. Aspectos Geológicos de Protección Ambiental. Vol. I, UNESCO. 239-250.
- Sauerbeck D (1982) Welche Schwermetallgehalte in Pflanzen dürfen nicht ubeschritten werden, um Wachstumsbeeinträchtigungenzu vermeiden? *Landwirtsch Forsch Sonderheft* 39:105-129
- Schat, H., Llugany, M., Vooijs, r., Hartley-Whitaker, J. Y Bleecker, P. 2002. The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *Journal of Experimental Botany* 53(379):2381-2392.
- Schmidt Ulrich, 2003. Enhancing Phytoextraction: The Effect of Chemical Soil manipulation on Mobility, Plant Accumulation, and Leaching of Heavy Metals. *J. Environ. Qual.* 32:1939-1954
- Schützendübel, A., Schwans, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Heyser, R., Godbold, D.I. y polle, A. 2001. cadmium-induced changes in antioxidative systems,

- hydrogen peroxide content, and differentiation in scots pine roots. *Plant Physiology* 127:887-898.
- Schützendübel, A. y Polle, A. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of experimental Botany* 53(372):1351-1365.
- Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Durango, 1998. Los municipios de Durango. México, D. F. 183p.
- SEDUE Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología. La evaluación de impacto ambiental: herramienta para prevenir el deterioro significativo del medio. Serie: impacto ambiental n° 1. Folleto técnico
- SEMARNAT, 2004a. Estadísticas del Medio Ambiente, México 1997. Informe de la Situación General en Materia de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, 1995-1996. Disponible en: http://carpetas.semarnat.gob.mx/estadisticas_2000/incendios/indice_informe.htm.
- SEMARNAT, 2004b. Información proporcionada por la Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas. INE, México.
- Shen Zhen-Guo, Li Xiang-Dong, Wang Chun-Chun, Chen Huai-Man, and Chua Hong, 2002. Lead Phytoextraction from Contaminated Soil with High-Biomass Plant Species. *Environ. Qual.* 31:1893–1900.
- Sias Salvador, Gardea-Torresdey Jorge, James Salvador, Webb Robert, 1998. Survey of northern chihuahuan desert plants for phytoremediation potential. Thesis. The University of Texas At El Paso.
- Trejo C. R., García O. C. N., Arreola A. J. G., Flores H. A. 2007. Determinación espacial de las concentraciones de plomo en suelo y vegetación del área de Bermejillo, Dgo
- US EPA, 2001. Treatment technologies for site clean-up: annual status report. 10th Ed. Office of Solid Waste and Emergency Response/Technology Innovation Office. EPA-542-R-01-004. 38 pp. Disponible en Internet en: <http://clu-in.org/asr>.
- Valdez Perezgasga F. y Cabrera Morelos V. M. 1999. La contaminación por metales pesados en Torreón, Coahuila, México. En *Defensa del Ambiente*, A.C. Texas center for Policy studies.
- Valdez Cepeda R. D., Rodríguez Ortiz J. C., Lara Mireles J. L., Rodríguez Fuentes H., Vázquez Alvarado R. E., Magallanes Quintanar R., García Hernández J.L. 2006. Soil nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cd and Pb by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Bioremediation Journal*.
- Van den Driessche. 1991. Influence of container nursery regimes on drought resistance of seedlings following planting. I. Survival and growth. *Can. J. For. Res.* 21, 555-565
- Van der Lelie D, Schwitzguebel J P, Glass D J, Vangronsveld J and Baker A 2001 Assessing phytoremediation's progress in the United States and Europe. *Environ. Sci. Technol.* 35(21), 446a–452a.
- Van Deuren, J., Z. Wang, Z. y J. Ledbetter 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. HYPERLINK "<http://www.epa.gov/tio/remed.htm>"
- <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>
- Van Deuren, J., T. Lloyd, S. Chetry, R. Liou y J. Peck. 2002. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide, 4th Edition. Technology Innovation Office, EPA Platinum International, Inc. Disponible en Internet en: http://www.frtr.gov/matrix2/top_page.html.
- Vargas P. J., García E. G. y Esparza G. F. 2002. Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. *Avance y Perspectiva* vol. 21

- Vassil, D.A., Kapulnik, Y., Raskin, I. y Salt, D.E. 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiology* 117:447-453.
- Vázquez A. A. y Bautista N. 1993. Guía para interpretar el análisis químico de suelo y agua. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Velasco T. J. A. y Volke S. T. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT).
- Volke S. T.; Velasco T. J. A. y de la Rosa P. D. A. 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alterna
- Watanabe M E 1997 Phytoremediation on the brink of commercialization. *Environ. Sci. Technol.* 31, 182–186.
- Zárate Z. R. 1994. El impacto Ambiental de las Actividades Humanas. En Aprovechamiento de los recursos naturales en la agricultura mexicana. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de centros regionales. Programa de recursos naturales y agricultura. Chapingo, México.

APENDICE A

A.1 Diseño de tratamientos

Bloque IV		
T ₄ 500 Pb	T ₃ 510 Pb+Cd	T ₁ 500 Pb
T ₂ 10 Cd	T ₁ 10 Cd	T ₀ 510 Pb+Cd
T ₄ 10 Cd	T ₀ 500 Pb	T ₂ 510 Pb+Cd
T ₀ 10 Cd	T ₂ 500 Pb	T ₃ 10 Cd
T ₁ 510 Pb+Cd	T ₄ 510 Pb+Cd	T ₃ 500 Pb
Bloque I		
T ₂ 500 Pb	T ₀ 10 Cd	T ₁ 10 Cd
T ₂ 510 Pb+Cd	T ₃ 510 Pb+Cd	T ₁ 500 Pb
T ₀ 510 Pb+Cd	T ₂ 10 Cd	T ₃ 500 Pb
T ₄ 10 Cd	T ₄ 510 Pb+Cd	T ₀ 500 Pb
T ₁ 510 Pb+Cd	T ₄ 500 Pb	T ₃ 10 Cd
Bloque III		
T ₀ 10 Cd	T ₃ 500 Pb	T ₁ 500 Pb
T ₃ 510 Pb+Cd	T ₃ 10 Cd	T ₂ 510 Pb+Cd
T ₀ 500 Pb	T ₁ 510 Pb+Cd	T ₁ 10 Cd
T ₀ 510 Pb+Cd	T ₄ 510 Pb+Cd	T ₂ 10 Cd
T ₂ 500 Pb	T ₄ 500 Pb	T ₄ 10 Cd
Bloque II		
T ₂ 10 Cd	T ₄ 10 Cd	T ₃ 510 Pb+Cd
T ₁ 10 Cd	T ₀ 10 Cd	T ₀ 510 Pb+Cd
T ₀ 500 Pb	T ₂ 500 Pb	T ₃ 10 Cd
T ₄ 500 Pb	T ₁ 500 Pb	T ₄ 510 Pb+Cd
T ₁ 510 Pb+Cd	T ₂ 510 Pb+Cd	T ₃ 500 Pb