

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Capacidad de Absorción de Plomo del Girasol Ornamental (*Helianthus annuus* L.)

Con la Adición de Ácidos Húmicos de Leonardita

Por:

XAVIER IVÁN VARGAS ARAGÓN

Tesis

Presentada como requisito parcial para
obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Capacidad de Absorción de Plomo del Girasol Ornamental (*Helianthus annuus* L.)

Con la Adición de Ácidos Húmicos de Leonardita

Por:

XAVIER IVÁN VARGAS ARAGÓN

Tesis

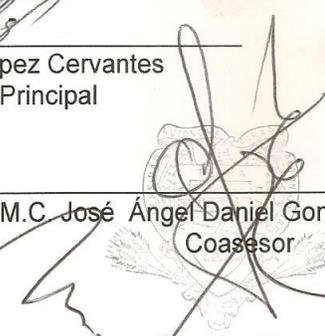
Presentada como requisito parcial para
obtener el título de:

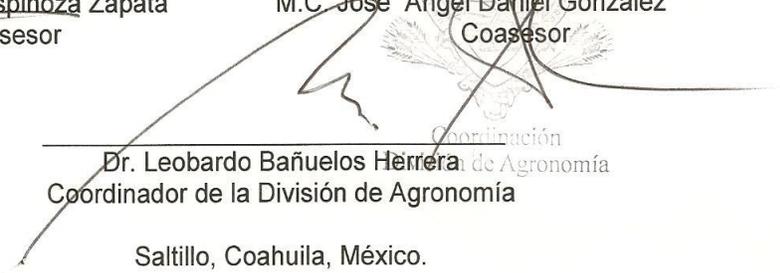
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada


Dr. Rubén López Cervantes
Asesor Principal


M.C. Roberto Espinoza Zapata
Coasesor


M.C. José Ángel Daniel González
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Junio, 2012

AGRADECIMIENTOS

A dios:

Por haberme dado la oportunidad de esta vida, porque siempre me encomendé a él en tiempos difíciles, por permitirme dar un paso más en mi formación profesional a pesar de los obstáculos que han dificultado mi camino, pero a la vez me han servido como experiencia y para entender el valor del sacrificio para lograr una meta, por el haberme brindarme la capacidad de entendimiento y paciencia, por su gran sabiduría y sobre todo por cuidar siempre de mi: gracias dios.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro:

A esta Honorable Institución que me abrió sus puertas para adquirir nuevos conocimientos que me servirán para enfrentarme a nuevos retos que me ponga la vida.

Al Jurado Examinador:

Al Dr. Rubén López Cervantes, el M.C. Roberto Espinoza Zapata y M.C. José Ángel Daniel Gonzales, por todas sus aportaciones y sugerencias para elaborar y concluir este trabajo.

Al M.C. Gerardo Sánchez Martínez

Por su gran amistad y convivencia que compartimos siempre.

A mis compañeros de Generación de Ingeniero Agrónomo en Producción:

A Luis Ángel, Uriel, Abraham, Gerardo, Guadalupe Yunuen, Agustín principalmente, por haber compartido varios momentos, ya sean buenos y en ocasiones malos durante nuestra estancia en la universidad, haciendo de esta una experiencia inigualable.

Y a todas aquellas personas que en algún momento me brindaron su amistad, apoyo y que me motivaron con palabras alentadoras en momentos difíciles. Me es difícil mencionarlos a todos, pero ustedes saben quiénes son, gracias por compartirme momentos de su vida.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Don Celestino Vargas Sandoval

Doña Dalila Aragón Marín

A ti mama que me brindaste la vida! A ti papa por tu confianza! Ustedes que siempre están preocupados por mi bienestar legándome la mejor herencia que es el estudio. Porque siempre me brindan su cariño y apoyo incondicional orientándome con sus sabios consejos quienes siempre me procuran día con día, pero más se les agradece el gran esfuerzo que han realizado para apoyarme siempre en mi vida profesional, con mucho cariño les dedico mi trabajo!.

A mis hermanos:

Luis Enrique Vargas Aragón (kikin)

Cinthya Vargas Aragón (pilar)

Ustedes que son mi familia, y que siempre hemos compartido momentos inolvidables.

A mi esposa:

Kattia Berenice Fuentes Gutiérrez.

Por el gran amor que me brindas, por el apoyo y comprensión incondicional, por tenerme una gran paciencia, por estar a mi lado a donde quiera que vaya, por estar conmigo en los tiempos difíciles, dándome alegría y felicidad día con día, por regalarme siempre una tierna sonrisa, y sobre todo por procurarme y estar al pendiente de mi cuando lo necesito y ser siempre mi mayor inspiración con mucho cariño y amor dedico este trabajo para ti TE AMO!.

A mi abuelita:

Cecilia Sandoval Turijan

Por haberme enseñado los valores de la familia y por aconsejarme cuando lo es necesario.

A mis tíos:

La familia Vargas Sandoval y familia Rodríguez Sandoval muchas gracias por el apoyo incondicional, por el ejemplo, por animarme en mi formación. Por darme cariño y momentos felices.

A mis primos Juan adrian, Freddy, Miguel, Eder Emanuel, Edwin, Christian, Erick Omar, Oscar, Héctor y todos los primos tíos y sobrinos gracias por todos los momentos que compartimos, siempre buscando la unión, por el gran cariño y amistad que hay entre nosotros por ser ejemplo para mí y siempre brindarme su apoyo y gracias por compartir sus experiencias conmigo .

Familia Fuentes Gutiérrez por su apoyo y comprensión mil gracias.

GRACIAS A TODOS.....

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
Índice de cuadros.....	vi
Índice de figuras.....	viii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo	4
Hipotesis.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
Suelos contaminados con metales pesados.....	5
Remediación de suelos contaminados con plomo.....	6
Tratamientos físico-químicos	6
Remediación electrocinética	7
Inundación del suelo	8
Extracción química	8
Vitrificación (fusión de suelos).....	9
Tratamientos biológicos (biorremediación)	10
Biorremediación microbiana.....	10
Biosorción.....	10
Biom mineralización	11
Biolixiviación.....	11
Biotransformación	12
Quimiosorción.....	12
La Fitorremediación.....	13
Plantas hiperacumuladoras de metales pesados	14
Agentes quelatantes.....	19
Formas de presentación de los contaminantes en el suelo y su disponibilidad	21
Movilidad de metales pesados en el suelo	21
Las sustancias húmicas	23
Ácidos húmicos	24
MATERIALES Y METODOS.....	26
Características generales del área.....	26
Metodología.....	26

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	50
LITERATURA CITADA.....	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Número de algunas plantas hiperacumuladoras de metales del mundo.....	15
Cuadro 2.- Agentes agrupados de acuerdo con su poder quelatante (Molina, 2003).	25
Cuadro 3. Distribución de los tratamientos de ácidos húmicos de Leonardita, adicionados a un suelo contaminado con plomo.....	27
Cuadro 4. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	29
Cuadro 4.1. Promedios de peso fresco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	30
Cuadro 5. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	30
Cuadro 5.1. Tabla de medias del peso seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	30
Cuadro 6. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido del capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	32
Cuadro 6.1. Promedios de lecturas de plomo absorbido por el capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	32
Cuadro 7. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	33
Cuadro 7.1. Promedios del peso fresco de hojas del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	33
Cuadro 8. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	34
Cuadro 8.1. Promedios del peso seco de hojas del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	34
Cuadro 9. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	35
Cuadro 9.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido en hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	36
Cuadro 10. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	37
Cuadro 10.1. Promedios del peso fresco del tallo del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	37
Cuadro 11. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	38
Cuadro 11.1. Promedios del peso seco del tallo del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.....	38

Cuadro 12. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	39
Cuadro 12.1. Promedio de la lectura de plomo absorbido de tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	40
Cuadro 13. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	41
Cuadro 13.1. Promedios del peso seco de la raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	41
Cuadro 14. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	42
Cuadro 14.1. Promedios de peso seco de raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	42
Cuadro 15. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en la raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	44
Cuadro 15.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido de raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo con un nivel de significancia de Tukey al 0.05.	44
Cuadro 16. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	45
Cuadro 16.1. Promedios del peso seco de la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	46
Cuadro 17. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	47
Cuadro 17.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido en la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	48

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de la zona de estudio.....	26
Figura 2. Peso fresco y seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	31
Figura 3. Análisis de plomo absorbido en capítulo en girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.	32
Figura 4. Peso fresco y seco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	35
Figura 5. Análisis de plomo absorbido en hoja en girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.	36
Figura 6. Peso fresco y seco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	39
Figura 7. Análisis de plomo absorbido en el tallo de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo	40
Figura 8. Peso fresco y seco de la raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.	43
Figura 9. Análisis de plomo absorbido en raíz de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo. Con un nivel de significancia de 0.05, Tukey = 398.1220.	45
Figura 10. Análisis de peso seco en hoja inferior de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.	47
Figura 11. Análisis de plomo absorbido en hoja inferior de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.....	48

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la capacidad de absorción de plomo del girasol ornamental con la adición de ácidos húmicos de Leonardita, en la remediación de un suelo contaminado con plomo, se colocó en macetas de plástico de 5 kg de este suelo, y se les adicionaron 5 diferentes tratamientos de ácidos húmicos de Leonardita 1,2, 3, 4, y 5 ml.litros⁻¹ y un testigo absoluto (solo agua), en la siembra del girasol ornamental variedad cv. "Sunbrigh" (SAKATA Seeds de México, S. A. de C. V.), se aplicó la primera dosis en la siembra y la siguiente a los 15 días. La dosis media de los ácidos húmicos de Leonardita, realizó el superior efecto en la acumulación de plomo en raíz; las dosis bajas en la hojas y el tallo, mientras que, la dosis más alta en el capítulo. Se concluye que con la adición de ácidos húmicos de Leonardita, es posible aumentar la capacidad de absorción de plomo por girasol ornamental (*Helianthus annuus* L.).

Palabras clave: fitorremediación, ácidos húmicos de Leonardita, Sunbrigh, quelatantes, fitoextracción, remediación,

I. INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se han convertido en un tema actual a nivel mundial, tanto en el campo ambiental, como en el de salud pública. Los daños que causan son tan severos y en ocasiones tan ausentes de síntomas, que las autoridades ambientales y de salud de todo el mundo, ponen mucha atención en minimizar la exposición de la población en general, en particular de la infantil (Valdés y Cabrera, 1999).

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental, la cantidad de metales disponibles en el suelo está en función del pH, el contenido de arcillas, contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, y otras propiedades que las hacen únicas en materia de la contaminación (Sauve *et al.* 2000). Además son definidos como elementos con propiedades metálicas (conductividad, ductilidad, etc.), número atómico mayor de 20, y cuya densidad es mayor a 5 g cm³. Se consideran metales pesados el plomo, cadmio, cromo, mercurio, zinc, cobre, plata y arsénico, los cuales constituyen un grupo de gran importancia, ya que algunos son esenciales para las células, pero en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales (Spain *et al.* 2003).

La presencia de metales pesados en los suelos agrícolas, se debe al uso inadecuado y prolongado de agroquímicos, incluyendo fertilizantes y pesticidas. Los fertilizantes fosforados contienen plomo, zinc, arsénico y cadmio, porque la roca fosfórica de donde los elaboran, los contiene, además el uso de ciertos plaguicidas han contribuido a aumentar los niveles del plomo, arsénico, mercurio y cobre, ya que algunos poseen hasta más del 25 por ciento de alguno de estos elementos (FAO/UNESCO, 1994).

La agricultura intensiva, es una de las actividades humanas que tienen mayor repercusión en la contaminación del suelo por metales pesados, esto es debido al

empleo de fertilizantes y plaguicidas de forma prolongada. Los fertilizantes fosforados pueden contener Zn, As, Cd y Pb debido a su presencia en la roca fosfórica. El uso de ciertos plaguicidas han contribuido a aumentar los niveles de As, Pb, Hg, Cu, algunos poseen concentraciones de Zn que pueden superar el 25 %. Fungicidas a base de Cu o de Zn, como el CuSO_4 , es utilizado con frecuencia en la producción de cultivos (Bernal, 1997).

El plomo (Pb), y otros metales pesados se consideran como contaminantes inorgánicos más nocivos para los seres vivos; provocan la pérdida irreversible de los recursos naturales debido a que no son biodegradables. Las fuentes de emisión del plomo son múltiples, incluyen: fundidoras, fábricas de baterías, algunas pinturas, la loza de barro vidriado cosida a bajas temperaturas, y las gasolinas; dicho elemento es un metal pesado, azuloso, suave y maleable, usado en varios procesos industriales. Existe naturalmente en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos. Cuando es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos en general y para los humanos en particular, sobre todo en los sistemas endocrinos cardiovasculares, respiratorios, inmunológicos, neurológicos, y gastrointestinales además de poder afectar la piel y los riñones. 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, 1999).

Una de las técnicas tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos, es aquella basada en el uso de plantas que tienen la propiedad de extraerlos y acumularlos; proceso denominado “fitorremediación” o “fitoextracción” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. En la fitoextracción, se han empleado ciertos agentes quelatantes (compuestos orgánicos ligantes sintéticos de cationes), los cuales facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el

crecimiento de las plantas (Raskin *et al.*, 1997). Así, por ejemplo, el EDTA (ácido ethilenedraminetetraacético), es particularmente efectivo ya que facilita la fitoextracción de cadmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn) a la adición de 10 mmol kg⁻¹ de un suelo contaminado con 1200 mg kg⁻¹ de Pb, esto resultó con una acumulación de 1.6 por ciento en tallos de *B. juncea* y el agente quelatante sintético fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas (Blaylock *et al.*, 1997).

Los ácidos húmicos y fúlvicos, las dos partes de la materia orgánica, pueden complejar y/o quelatar cationes, debido a su alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados. En los primeros dominan los grupos funcionales carboxilos y para los segundos, los grupos oxhidrilos fenólicos, porque más del 80 % de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por los grupos funcionales mencionados (Harter y Naidu, 1995; Schnitzer, 2000); Evangelou *et al.*, (2004), emplearon DTPA con hierro (DTPA-Fe), ácidos húmicos obtenidos de leonardita como agentes quelatantes y plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* SR-1) en laboratorio, con el objeto de fitoextraer cadmio (Cd) de un suelo contaminado y concluyen que los ácidos húmicos tienen un efecto positivo en la biohabilidad del metal pesado y aceleran la fitoextracción de éste. Además, que los ácidos no tienen efectos negativos como el DTPA-Fe, al emplearse como agentes quelatantes en el crecimiento de las plantas de tabaco; sin embargo, se han hecho grandes esfuerzos para obtener ácidos húmicos en grandes cantidades para emplearlos en la fitoextracción del Cd. Los agentes quelatantes sintéticos son costosos, difíciles de conseguir y ser manejados por personal técnico, por lo que se hace necesaria la búsqueda de agentes quelatantes naturales y económicos, además, que sean correctivos y no afecten a la naturaleza.

El presente trabajo se considera de suma importancia en la recuperación de suelos contaminados con plomo, con la finalidad de evitar la toxicidad en los seres humanos, plantas y animales principalmente, utilizando para ello, plantas de

girasol, y ácidos húmicos como elementos para remediación en suelos contaminados.

OBJETIVO

Determinar la capacidad de absorción de plomo del girasol ornamental con la adición de ácidos húmicos de Leonardita.

HIPOTESIS

Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita, es posible aumentar la capacidad de absorción de plomo por girasol ornamental (*Helianthus annuus* L.).

II. REVISION DE LITERATURA

Suelos contaminados con metales pesados

La tabla periódica incluye unos 70 elementos metálicos, y de ellos 59 pueden ser considerados “metales pesados”, con peso atómico mayor que el del hierro (55,85 g/mol) y una densidad superior a 5 gr cm⁻³. Con esta precisión se excluirían metales con pesos atómicos menores que el del Fe y que con frecuencia pueden ser metales contaminantes, como el V (50,95), Mn (54,44), Cr (52,01) y a otros que realmente no son metales como As, F y P. Por ello, resulta mejor hablar de contaminación por “elementos traza”, si bien hay que reconocer que la mayoría de los contaminantes inorgánicos son “metales pesados”, aunque algunos son imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de los organismos, los denominados esenciales como cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, vanadio, y estroncio, en cantidades excesivas son perjudiciales e incluso letales para los seres vivos. Los metales pesados no esenciales comúnmente implicados en problemas de contaminación por las aguas subterráneas son: cromo, cadmio, mercurio, plomo, arsénico y antimonio (Kennish, 1992).

La explotación y extracción de metales produce anualmente millones de toneladas de residuos, la mayoría con pirita y otros sulfuros, cuya oxidación libera grandes cantidades de metales pesados al ambiente, y en particular a los suelos. En estas áreas, las capas superiores de los suelos presentan concentraciones elevadas de Cu, Ni, As, Se, Cd, Fe, etc., dependiendo lógicamente del tipo de mineralización explotada. Los suelos que quedan tras una explotación minera contienen todo tipo de materiales residuales, escombros estériles, entre otros, lo que representa graves problemas para el desarrollo de la cubierta vegetal, siendo sus características más notables las siguientes: clase textural desequilibrada, ausencia o baja presencia de la estructura edáfica, propiedades químicas anómalas, disminución o desequilibrio en el contenido de nutrientes fundamentales, ruptura de los ciclos biogeoquímicos, baja profundidad efectiva, dificultad de

enraizamiento, baja capacidad de cambio, baja retención de agua y presencia de compuestos tóxicos (García, Dorronsoro, 2002).

Remediación de suelos contaminados con plomo

La recuperación de suelos contaminados con metales pesados es uno de los problemas más difíciles de las tecnologías de descontaminación. La restauración ambiental se puede llevar a cabo por diversas estrategias que suponen eliminar los contaminantes, o estabilizarlos en el suelo. Las técnicas más drásticas se basan en procesos físicos o físico-químicos, como la extracción físico-química de metales por lixiviación acida y electro-ósmosis, o la inmovilización *in situ*, ejemplo; la vitrificación, que en caso de contaminación superficial, considera la eliminación de la capa superficial del suelo contaminado. Estos métodos son muy drásticos y caros, precisan de equipos y personal especializado, y solo son adecuados para la descontaminación de áreas pequeñas. Además, estos métodos eliminan la actividad biológica del suelo tratado y afectan negativamente a su estructura física (Bernal, 1997).

Tratamientos físico-químicos

Este tipo de tratamientos, aprovecha las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Estas tecnologías generalmente son efectivas en cuanto a costos y pueden concluirse en periodos cortos, en comparación con las tecnologías biológicas; sin embargo, los costos pueden incrementarse cuando se utilizan técnicas de separación, en las que los contaminantes requieran tratamiento o disposición (Van Deuren *et al.*, 1997; Volke y Velasco, 2002). Las tecnologías fisicoquímicas incluyen tres estrategias básicas de acción sobre el contaminante: destrucción, extracción e inmovilización.

Según Volke y Velasco (2002), también mencionan ventajas y desventajas de los tratamientos fisicoquímicos:

Ventajas

- a) Son confiables y no representan altos costos.
- b) Pueden realizarse en periodos cortos.
- c) El equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería.

Desventajas

- a) Los residuos generados por técnicas de separación deben tratarse o disponerse, lo que incrementa costos y necesidad de permisos.
- b) Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes, lo que implica la necesidad de sistemas de recuperación.

Remediación electrocinética

El tratamiento electrocinético (remediación electrocinética o electro-remediación), es una tecnología emergente de remediación *in situ*, altamente efectiva en la remoción de metales pesados y compuestos orgánicos altamente solubles en agua (Ko *et al.*, 1992). La electro-remediación de un suelo, involucra la aplicación de una corriente directa de bajo voltaje o de un gradiente de potencial bajo a través de un electrodo positivo (ánodo) y uno negativo (cátodo) que se insertan en el suelo (Riser-Roberts, 1998).

Durante la aplicación de una corriente eléctrica, se crea un campo eléctrico entre los electrodos, en donde las sustancias solubles (contaminantes) tienden a migrar hacia uno de los electrodos, en función de sus cargas, polaridad y movilidad (Ko *et al.*, 2000). Dentro de los contaminantes que pueden tratarse por procesos electroquímicos, se encuentran: metales pesados (Pb, Hg, Cd, Ni, Cu, Zn, Cr); especies radioactivas (¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr, ⁶⁰Co, Ur); aniones tóxicos (NO₃⁻, SO₄⁻); mezclas de contaminantes orgánicos/iónicos; hidrocarburos del petróleo; hidrocarburos halogenados; PAHs; BTEX; cianuros y explosivos (Van Cauwenberghe, 1997).

Inundación del suelo

La inundación del suelo (Soil Flushing) *in situ* es una técnica que consiste en inundar al suelo contaminado con una solución acuosa, llevando los contaminantes hasta un sistema de extracción. Esta tecnología aplicada *ex situ*, se conoce como lavado de suelos o soil washing (US EPA, 1996). El uso de ambas técnicas es recomendable para suelos arenosos, ya que éstos permiten el paso de la solución de lavado; esto, junto con las propiedades de ciertos aditivos, que pueden contaminar el agua subterránea, puede limitar la eficacia general del proceso (US EPA, 1997). El lavado de suelos, a diferencia de la inundación, puede concentrar los contaminantes en un volumen menor de suelo, debido a la separación entre partículas finas y gruesas, ya que los contaminantes generalmente se encuentran sobre las partículas más finas (Freeman, 1998).

El tipo de solución a emplear para el lavado o inundación, depende de los contaminantes a tratar y de las características del sitio, y puede ser agua o agua con aditivos como ácidos, bases o agentes tensoactivos. Para extraer metales y contaminantes orgánicos, pueden emplearse soluciones ácidas. Las soluciones básicas se usan para tratar fenoles y algunos metales. Las soluciones tensoactivas son eficaces para retirar contaminantes oleosos (US EPA, 1996). En general, el lavado de suelos *ex situ* con ácidos fuertes para la extracción de metales puede variar entre 10 y 40 minutos, mientras que el proceso de inundación puede llevar horas o días (US EPA, 1997). Una vez que se realiza el tratamiento, los contaminantes quedan en la fase acuosa, por lo cual debe procederse a tratar esta solución por los métodos convencionales de tratamiento de agua.

Extracción química

La extracción química no destruye los contaminantes, sino que los separa de suelos, lodos y sedimentos, para así reducir el volumen del material a tratar. La tecnología utiliza un químico de extracción y difiere del lavado de suelos, que generalmente utiliza agua o agua con aditivos.

La extracción ácida (con ácido clorhídrico) puede utilizarse en el tratamiento de suelos contaminados con metales pesados. El suelo contaminado debe tamizarse para remover sólidos gruesos y, posteriormente, se adiciona el ácido clorhídrico al suelo en una unidad de extracción. El tiempo de residencia del ácido, varía en función del tipo de suelo y del tipo y concentración de los contaminantes. Durante el proceso, el agente de extracción se bombea continuamente fuera del tanque de mezclado; cuando se completa la extracción, el suelo se transfiere a un sistema en el cual se enjuaga con agua para eliminar los metales y el ácido. De esta manera los metales se concentran en una forma potencialmente conveniente para su recuperación (Van Deuren *et al*, 1997).

Vitrificación (fusión de suelos)

La vitrificación es un proceso de solidificación/estabilización, ya que convierte los residuos a formas estructuralmente más estables, con un potencial reducido para la migración de contaminantes al medio ambiente. Usualmente ha sido aplicada para la inmovilización de muchos contaminantes inorgánicos. El proceso no requiere de la adición de reactivos e implica la fusión del suelo contaminado, por acción de temperaturas elevadas (1600 a 2000 °C), alcanzadas por el paso de una corriente eléctrica continua de alto voltaje, seguida por el rápido enfriamiento del material fundido que contiene los contaminantes incorporados en un producto vitrificado. El proceso se inicia utilizando una capa superficial de grafito y vidrio poroso, que sirven como ruta de encendido (Becerril y Navarrete, 1993).

Debido a las temperaturas utilizadas en el proceso, ningún contaminante orgánico permanece en el producto de los contaminantes inorgánicos, unos se descomponen (cianuros), mientras otros se disuelven o reaccionan con el material fundido. El uso de suelo contaminado, como material para la fabricación de vidrio, ofrece ventajas como técnica de tratamiento, ya que se genera un producto con usos potenciales. Para la remediación de suelos, la vitrificación *in situ* ha sido probada a escala piloto; en los EE.UU., la tecnología se encuentra disponible comercialmente y se ha empleado con éxito en dos sitios, uno contaminado con metales (US EPA, 1997; Chandler *et al.*, 1997).

Tratamientos biológicos (biorremediación)

Se ha demostrado que los métodos tradicionales para la remediación de sitios contaminados, además de ser costosos a menudo no son eficaces. La biorremediación aparece como una técnica alternativa efectiva y de bajo costo en el intento de mitigar y reducir la contaminación de compuestos orgánicos e inorgánicos, recurriendo a sistemas biológicos tales como las plantas, hongos, enzimas y bacterias que sustituyan a las actuales estrategias de enmienda del suelo y agua (Chaney *et al.*, 1999; Garbisu y Alkorta, 1997).

Biorremediación microbiana

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y tolerantes a los metales. Los primeros, se caracterizan por poseer mecanismos de toxificación codificados genéticamente, e inducidos por la presencia de un metal; los microorganismos tolerantes, son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Ambos tipos de microorganismos son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes de una matriz contaminada. Con base en estos mecanismos, las estrategias biológicas para la remoción o inmovilización de contaminantes inorgánicos presentes en una matriz como el suelo, pueden dividirse en: biosorción, biomineralización, biolixiviación, biotransformación y quimiosorción (Volesky y Holan, 1995).

Biosorción

La *biosorción* es la separación pasiva de metales y metaloides por interacciones con material biológico vivo o muerto y es, hasta ahora, el acercamiento más práctico y ampliamente usado para la biorremediación de metales (Barkay y Schaefer, 2001). Implica mecanismos fisicoquímicos por los que las especies metálicas son sorbidas y/o acomplejadas en biomasa o productos microbianos (Gadd, 2000). Los procesos de *biosorción* son, esencialmente, pseudoprocesos de intercambio iónico, en los cuales los iones metálicos son intercambiados hacia componentes de carga opuesta unidos a la biomasa o a una resina. En general,

depende del pH del líquido y de las características químicas del metal (Eccles, 1999).

Biomineralización

La biomineralización o precipitación microbiana es la formación de precipitados metálicos insolubles por interacciones con productos del metabolismo microbiano. La biomineralización de metales y metaloides en forma de minerales de azufre, hidróxido, fosfato y carbonato, tiene aplicaciones potenciales para la biorremediación (Barkay y Schaefer, 2001). La precipitación reductora es un mecanismo por el cual, los microorganismos reducen la movilidad y toxicidad de un metal, a través de su reducción a un menor estado redox, ofreciendo aplicaciones potenciales para la biorremediación. Ciertos microorganismos anaerobios, durante su respiración, reducen formas metálicas oxidadas altamente solubles a formas elementales (reducidas) insolubles, dando como resultado la detoxificación y precipitación (Lovley y Coates, 1997; Barkay y Schaefer, 2001).

Biolixiviación

La biorremediación de suelos contaminados con metales por lixiviación microbiana o *biolixiviación*, es una tecnología relativamente nueva, simple y efectiva, utilizada para la extracción de metales a partir de minerales y/o concentrados que los contienen. La recuperación a partir de minerales de azufre o de hierro, se basa en la actividad de bacterias que oxidan hierro y azufre (*Thiobacillusferrooxidans*, *T. thiooxidans* y *Leptospirillumferrooxidans*), las cuales convierten sulfuros metálicos insolubles (S₀) a sulfatos solubles y ácido sulfúrico (Bosecker, 2001). Esta disolución hace que los metales puedan recuperarse fácilmente de ambientes contaminados y suelos superficiales, usando estrategias de remediación de bombeo-tratamiento (Lovley y Coates, 1997).

Biotransformación

Este es un proceso que involucra un cambio químico sobre el metal, por ejemplo, en el estado de oxidación o de metilación. Esta transformación biológica de metales tóxicos, mediada por enzimas microbianas, puede dar como resultado compuestos poco solubles en agua o bien compuestos volátiles. Un ejemplo de este proceso, es el ciclo natural del Hg, en el cual, ciertas bacterias pueden reducir el Hg^{2+} a Hg^0 , y otros organismos pueden luego metilarlo dando como producto formas orgánicas del mercurio, como CH_3Hg^+ y $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$, que son volátiles y más tóxicas que el propio Hg. Otros ejemplos de este proceso son las reducciones de V(V) a V(III), Au(III) a Au(0) y Cr(VI) a Cr(III), lo cual conlleva a la precipitación del metal bajo condiciones fisiológicas.

Quimiosorción

Con este término se describen las reacciones en las que los microorganismos mineralizan un metal, formando un depósito primario. Este depósito primario funciona como núcleo de cristalización, con la consecuente deposición del metal de interés, promoviendo y acelerando así el mecanismo de mineralización. Un ejemplo de este proceso es la adición de Fe en un efluente en presencia de BSR, las cuales producen sulfuros que precipitan en forma de cristales FeS, sobre la superficie celular. Los otros metales contaminantes pueden cristalizar sobre el FeS formado.

En los Estados Unidos, a partir de 1986, hubo un incremento significativo en el tratamiento de suelos contaminados. Sin embargo, hasta el momento, existen pocas alternativas comerciales para tratar metales en suelos, especialmente *in situ*. Uno de los tratamientos más frecuentemente seleccionado en el programa "Superfund", ha sido la Solidificación/Estabilización (US EPA, 1997). Entre las tecnologías convencionales que se han usado para la limpieza de suelos contaminados con metales, se encuentran: la inmovilización (contención con el uso de barreras verticales u horizontales), la solidificación/estabilización [S/E] (vitrificación y microencapsulación), excavación y entierro; separación y

concentración (lavado de suelos, inundación de suelos y pirometalurgia) y sistemas electrocinéticos (US EPA, 1997a; Prasad y Freitas, 2003).

En México al igual que en EE.UU., la mayor parte de los suelos contaminados están sometidos a tratamientos de remediación “*in situ*” (88%), más que tratamientos “*ex situ*” (12%). Actualmente existen en México alrededor de 85 empresas autorizadas, que ofrecen servicios de remediación para suelos contaminados con el uso de diferentes tipos de tecnologías, enfocadas exclusivamente a la remediación de sitios contaminados con compuestos orgánicos (principalmente hidrocarburos). En ese año, de un total de 57 empresas autorizadas, ninguna ofrecía servicios para la remediación de suelos contaminados con metales pesados (Volke y Velasco, 2002).

En Holanda, país pionero, se emplea una gama de técnicas de remediación, siendo la más común, la excavación, remoción y confinamiento fuera del sitio de los materiales contaminados (40 a 60% de los casos). Sin embargo, el confinamiento tenderá a usarse cada vez menos en el futuro por dos razones:

- 1) El costo está incrementándose por los requerimientos ambientales que se han impuesto últimamente al confinamiento.
- 2) Porque está previsto que el ministro del ambiente, prohíba la disposición de suelos contaminados en confinamientos si es técnicamente posible su limpieza.

Este mismo país ha sido el líder en “biorremediación”, sobre todo fuera del sitio, aunque también ha empleado frecuentemente la incineración (Cortinas, 2002).

La Fitorremediación

El término “fitorremediación” (fito = planta y remediación = remediar), es relativamente nuevo y fue usado por primera vez en 1991. Entre las metodologías de limpieza para suelos contaminados por metales pesados, la técnica de “fitoextracción” a través de los tejidos de las plantas, presenta ventajas ecológicas y económicas. Esta opción de limpieza depende principalmente, de las condiciones del suelo y de la planta acumuladora (Pulfort y Watson, 1993). Para

mejorar los procesos de “fitoextracción”, la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces, puede facilitarse a través de la adición de agentes acidificantes, de fertilizantes o quelatantes (Prasad y Freitas, 2003).

Plantas hiperacumuladoras de metales pesados

Todas las plantas poseen un potencial para absorber una amplia variedad de metales del suelo, pero la mayor parte de las plantas tienden a absorber los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Una notable excepción de esta regla, es un pequeño grupo de plantas que pueda tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, como lo son los metales pesados, estas plantas reciben el nombre de hiperacumuladoras (Chen *et al.* 2001). Una definición propone que si una planta contiene más de 0.1 por ciento de níquel (Ni), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), plomo (Pb) y zinc (Zn) en las hojas sobre la base del peso seco, esta puede ser llamada una “hiperacumuladora”, independientemente a la concentración del metal en el suelo (Robinson *et al.* 2003).

Las primeras plantas hiperacumuladoras caracterizadas, son miembros de las familias *Brassicaceae* y *fabaceae*. El gran interés despertado por las plantas hiperacumuladoras, especialmente para detoxificar un ambiente contaminado, obliga también a resolver otros problemas relativos a otras disciplinas. Lasat (2002), hace hincapié en ello y destaca que, cuando se intensifique la investigación conjunta de diversos campos como botánica, fisiología vegetal, agronomía, química y genética, probablemente se inicie un futuro para la fitorremediación. El entorno de las plantas hiperacumuladoras revela la necesidad de impulsar mayores conocimientos multidisciplinarios que aumente la rentabilidad y eficacia de dichas plantas: sus aplicaciones son interesantes en muchas áreas y particularmente importantes en la protección del medio ambiente (cuadro 1) (Lasat, 2002).

Cuadro 1. Número de algunas plantas hiperacumuladoras de metales del mundo.

METAL	NÚMERO DE TAXONES	NÚMERO DE FAMILIAS
Arsénico	2	1
Cadmio	2	1
Cobalto	26	11
Cobre	35	15
Plomo	14	7
Manganeso	9	5
Níquel	317	37
Selenio	20	7
Zinc	13	5

(Basados en registros de Revees y Baker (2000)).

Salt *et al* (1998), establece que el botánico A. Baumann, al trabajar en los límites entre Bélgica y Alemania, observó que las hojas de ciertas especies de plantas que crecían en suelos enriquecidos naturalmente con zinc y contenía altas concentraciones de este elemento, registró la especie como la violeta (*Viola aclamaría*) y la mostaza (*Thlaspi calaminare*) recientemente clasificada como *Thlaspi caerulescens*, las que contenían cerca de 1 a 1.7 por ciento de zinc en el peso seco de las hojas. Estas fueron comparadas con los niveles de zinc entre 0.001 y 0.02 por ciento del peso seco de las hojas de otras plantas.

Estudios realizados en los Estados Unidos de América, reportaron al selenio, como un componente de la planta responsable de trastornos en ciertos animales en Dakota de Sur. Esta investigación indujo al descubrimiento de plantas capaces de acumular selenio arriba de 0.6 por ciento en la biomasa de los brotes. Una década más tarde, dos botánicos italianos, Minguzzi y Vergnano (1948), descubrieron plantas que acumulan níquel, ellos observaron que las hojas secas de *Alyssum bertolinii*, que crecían es suelos serpentinos ricos en níquel, cerca de Florencia Italia y contenía el 1 por ciento de níquel por arriba de 100 a 1000 veces más alto que otras plantas que crecían cercanas al sitio.

En investigaciones realizadas por Chaney, al evaluar plantas llamadas “Hiperacumuladoras”, encontró que la especie conocida como *Thlaspi caerulescens* acumula hasta 30 000 ppm de zinc y hasta 6000 ppm de cadmio en sus hojas, sin reducir el rendimiento de la planta (Brown *et al.* 1995). Otras especies como *Chichorium intybus*, *Erigeron canadensis* y *Eupatorium capillifolium*, han sido investigadas como especies que indican la biodisponibilidad de estos metales contaminantes, por incorporarlos sin mostrar síntomas de toxicidad. El *Amaranthus reflexus* ha demostrado ser efectiva al absorber el amenazador cesio-137 radiactivo: también resulta muy prometedora como hiperacumulador de plomo y el helecho, originario de Florida (*Pteris vittata*), es capaz de absorber el peligroso arsénico, lo más curioso es que el helecho crece mejor en los suelos que contienen elevadas cantidades de arsénico que en los que carecen de él (Martin *et al* 1996).

El cadmio (Cd) se puede acumular en el girasol (*Helianthus annuus*) según Davies *et al.* (2001); y Simón, (1998). El girasol es una rizofiltradora potencial de cadmio, níquel, cobre, zinc, cromo y plomo; así como los radioisótopos, también existen plantas que al mismo tiempo que son hiperacumuladoras de cobre, lo son del cobalto, entre ellas algunas especies de la familia *Asteraceae* (Brooks 1998).

Desde el punto de vista ecológico, el papel de las plantas hiperacumuladoras no está aun completamente claro, pero se han supuesto que estas suministran protección contra el ataque de hongos patógenos e insectos. Las recientes evidencias, han confirmado la función de protección de la acumuladora de níquel contra hongos y bacterias patógenos en *Steptatanthus polygaloides* e insectos herbívoros en *S. polygaloides* y *T. montanum* (Li *et al.*, 2003). El efecto contra los insectos herbívoros está bien demostrado en *Thlaspi caerulescens*, que es una planta hiperacumuladora de zinc. Las plantas hiperacumuladoras, con esta extraordinaria habilidad de acumular metales pesados, pueden ser usadas en actividades de remediación del medio ambiente además, constituye un importante recurso biológico en las futuras revegetaciones y fotorremediaciones de áreas

contaminadas con metales pesados. Sin embargo, las aplicaciones máximas todavía no se han logrado; una razón importante es la falta de conocimientos de los mecanismos moleculares y procesos biológicos involucrados que permiten tolerar; la adquisición, el transporte y acumulación de los metales en las plantas; incluso que se puedan alimentar de los metales (Lovley, 1997).

En las últimas décadas, la búsqueda se ha conducido a investigar la biología de la fitoextracción de metales, pero a pesar de los éxitos significativos, la comprensión del mecanismo de las plantas que permite la extracción del metal, emerge lentamente. El éxito natural de especies de plantas capaces de acumular extraordinariamente altos niveles de concentraciones, hace de la investigación un proceso particularmente interesante. Como resultado, se está obteniendo los avances para la comprensión de los mecanismos a nivel molecular, por los cuales las plantas son capaces de tolerar excesos y absorber metales pesados, que serían venenos y peligros para otras especies, mientras que las hiperacumuladoras los incorporan como nutrientes (Huang *et al* 1997).

Los genes responsables de la hiperacumulación de los metales pesados, en los tejidos finos de la planta, se han identificado y se han reproducido. El metabolismo de los ácidos orgánicos, desempeña un papel importante en las plantas que toleran metales pesados. En el ambiente, los ácidos orgánicos desempeñan un papel importante, en el proceso de fitorremediación de metales pesados (Hall, 2002).

Para Baker y Walter (1997), en fitorremediación se necesitan plantas de rápido crecimiento, con una alta capacidad de incorporación de metales y una rápida ganancia de biomasa, para que puedan interferir en la biodisponibilidad de metales tóxicos en suelos. Las limitaciones que pueden mostrar las plantas hiperacumuladoras: son su pequeña biomasa radicular, su restringida selectividad de los elementos, el pobre conocimiento acerca de la agronomía, la genética y las enfermedades de estas plantas. En su gran mayoría, las plantas que acumulan metales, son especies silvestres, pequeñas en tamaño y tienen tasas de crecimiento lento, como ejemplo, se tiene a *Thlaspi caerulescens*, que es una

planta no micotrófica y de lento crecimiento, que son características limitantes en el porcentaje de la fitoextracción.

Otras plantas acumuladoras, con abundante biomasa, son micotróficas, tales como el girasol y sauce, por lo que ahora reciben mayor atención las que asociadas con hongos micorrizicos (HMA), son tolerantes a metales y pueden por lo tanto ser consideradas para descontaminar suelos levemente contaminados. La asociación de las plantas con hongos micorrizicos, representa una serie de importantes ventajas entre las que destacan; protección contra ataques de parásitos y enfermedades, mayor área de extensión de las raíces facilitando la absorción de nutrimentos; inorgánicos y orgánicos Leyval *et al.* (2001), y Ernst, (2000).

Actualmente las plantas hiperacumuladoras identificadas son 397, este número puede ser cambiado en el futuro, ya que más plantas que crecen en suelos ricos en metales son investigadas; en la mayoría de los casos, no se trata de especies raras, sino de cultivos comunes que se han ensayado con éxito como posibles especies fitorremediadoras. En el futuro, plantas como la alfalfa, la mostaza, el tomate, la calabaza, el sauce y el bambú, pueden ser empleadas para este fin. Las principales familias a las que pertenecen las plantas hiperacumuladoras son: *Asteraceae*, *Aceraceae*, *Poaceae*, *Brassicaceae*, *Betulaceae*, *Convolvulaceae*, *Cyperaceae*, *Fabaceae*, *Malvaceae* y *Oleaceae* (De Oliveira y Vara 1999).

El gran interés despertado por las plantas hiperacumuladoras, especialmente para detoxificar un ambiente contaminado, obliga también a resolver otros problemas relativos a otras disciplinas. Lasat (2002), hace hincapié en ellas y destaca que, cuando se potencie la investigación conjunta de diversos campos como la botánica, la fisiología vegetal, agronomía, la química y la genética, probablemente se inicie un brillante futuro para la fitorremediación. El entorno de las plantas hiperacumuladoras releva la necesidad de impulsar mayores conocimientos multidisciplinarios que aumenten la rentabilidad y eficacia de dichas plantas. Sus aplicaciones son interesantes en muchas áreas y particularmente importantes en la protección del ambiente.

Miembros de las familias *Brassicaceae* (géneros *Alyssum* y *Thlaspi*) y *Fabaceae*, fueron los primeros señalados como hiperacumuladores. El género *Thlaspi* contiene especies que hiperacumulan Zn, Ni, Cd y Pb (Baker y Brook, 1989), como *T. caerulescens* que crece en suelos de calaminas y serpentinas y cuya distribución en Gran Bretaña y Bélgica está estrechamente vinculada con las mismas de Zn y Pb. Los pastos, son el género más adecuado para la fitorremediación de forma orgánica e inorgánica de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas (Singh et al. 2003). En las *Asteraceae* se han reportado por ejemplo, tolerancia al plomo en *Sonchus oleraceus* y se le ha propuesto como especie fitorremediadora de ambientes contaminados con este metal (Xiong, 1997).

La especie *Thlaspi caeruleum*, en suelos contaminados con zinc y cadmio, logra eliminar más de un 8 mg.kg de cadmio y 200 mg.kg de zinc, representando esto valores el 43 y 7 por ciento de estos metales, en un suelo agrícola, respectivamente (Lombi et al. 2001). El girasol (*Helianthus annuus L.*), es la especie que absorbe los metales más pesados en mayor cantidad en sus raíces y en sus brotes, si se cosecha la biomasa entera de la planta, por lo que se considera una planta hiperacumuladora favorable en la fitoextracción de Cd, Zn Pb y elementos radiactivos (Christie et al. 2004; Reeves, 2003; Davies, 2002; Cabrera et al. 1999; Kumar et al. 1995).

Agentes quelatantes

Ciertos agentes quelatantes sintéticos, facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el crecimiento de las plantas y durante largo tiempo se han empleado, para dejar disponibles los metales pesados a las planta. Así, el EDTA (ácidoetilendiaminotetracético), fue efectivo porque facilitó la fitoextracción de cadmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn) con la adición de 10 mmol kg⁻¹ de EDTA a un suelo contaminado con 1200 mg de Pb por kg⁻¹ de suelo, lo que resultó con una acumulación de 1.6% en tallos de *B. juncea*. El EDTA fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas

(Blaylock *et al.* 1997). Sin embargo, estos agentes quelatantes (EDTA, DTPA, etc.), son costosos y difícil su adquisición, por lo que se hace necesaria la búsqueda de alternativas económica y ecológicamente factibles, para colocar los metales pesados disponibles a las plantas y así estar en posibilidades de remediar los suelos contaminados con estos materiales.

Los AH y AF incrementan la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo y la retención de humedad. Estimulan el desarrollo de la raíz, y a nivel foliar aumentan la permeabilidad de la membrana celular facilitando la absorción de nutrimentos, y son agentes naturales quelatantes de metales cationicos, por lo que son utilizados para la nutrición mineral de los cultivos debido a la acción acomplejante que ejercen sus grupos funcionales carboxílicos (COOH) e hidroxílicos (OH) (Molina, 2003).

Los AF y AH tienen efecto en la disponibilidad de metales en el suelo y aceleran la eficiencia de la fitoextracción. Además, no tiene efectos negativos como los quelatos sintéticos, como el EDTA ya que disminuyen seriamente el crecimiento de la planta, sin embargo, es un esfuerzo alto el obtener estos en cantidades suficientes para utilizarlos en la fitorremediación (Evangelou *et al.* 2004).

En un experimento realizado por Heidmann (2004), se observó que en promedio el 81% de los AF fueron absorbidos a pH 4, y el 46% a pH 6 y solo el 17% a pH 8, respectivamente. Las SH pueden unirse a las superficies de los minerales por diversos mecanismos, incluyendo intercambio de ligadores, interacciones eléctricas, puentes por cationes y el agua e interacciones hidrofóbicas. La absorción de Pb en la superficie prenotada de grupos hidroxilo, es el más importante mecanismo de absorción. El Pb puede formar unión (puente catión) con AF formando un complejo. Altas concentraciones de Pb podrían inducir agregación de las moléculas de AF en solución, pero con cobre (Cu) no. Las moléculas de AF con alto peso molecular son adsorbidas por caolinitas, con la presencia de Pb y los AF de bajo peso molecular, permanecen en solución.

Formas de presentación de los contaminantes en el suelo y su disponibilidad

Los contaminantes en suelos y sedimentos se pueden hallar en seis formas diferentes (Rulkens *et al.*, 1995): como partículas (contaminantes particulados), como películas líquidas, adsorbidos, absorbidos, disueltos en el agua intersticial de los poros, o como fases sólidas en los poros.

Para cada caso el comportamiento del contaminante es distinto. Por tanto, el análisis químico de los elementos traza de un suelo es una medida poco representativa de la peligrosidad de los posibles contaminantes. Indica en todo caso la peligrosidad potencial o futura, pero no la actual, de los elementos determinados, siempre con referencia a ciertos valores acordados previamente, que no deben ser superados. Por ello, además de este análisis, se debe disponer de datos sobre cómo se encuentran estos elementos potencialmente tóxicos, tanto en su formas físicas como química, y las fracciones asimilables, que es una medida directa de la peligrosidad real. De otra forma, la facilidad con la que un metal potencialmente tóxico puede acceder a la cadena alimenticia a través del suelo depende de si el metal está libre en solución intersticial o en fases sólidas, o cómo el metal está ligado a las partículas de suelo y su forma química, o sea de su especiación. En este sentido, Kabata-Pendias (1995) señala que según se encuentre el metal retenido en el suelo, así será su disponibilidad relativa por las plantas y por tanto la incorporación a los organismos.

Movilidad de metales pesados en el suelo

La contaminación del suelo por metales pesados esta principalmente relacionada con diferentes tipos de actividades humanas. Una vez en el suelo, estos pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos (Pagnanelli *et al.* 2004). Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas,

dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelos, nivel de introducción y tiempo (Han *et al.* 2003).

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

Los factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo son: características del suelo: pH, potencial rédox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de cambio, presencia de carbonatos, materia orgánica, textura; naturaleza de la contaminación: origen de los metales y forma de deposición y condiciones medioambientales: acidificación, cambios en las condiciones rédox, variación de temperatura y humedad (Sauquillo *et al.* 2003).

En general, los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías: quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo, asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos; pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas; pasan a la atmosfera por volatilización y se movilizan a las aguas superficiales o subterráneas (García y Dorronsoro, 2005).

Actualmente, en nuestro país, la investigación realizada en materia de contaminación de suelos por elementos potencialmente tóxicos (EPT) y sus potenciales implicaciones hacia el ambiente y la salud, ha sido escasa; como consecuencia, el desarrollo tecnológico para dar solución a este tipo de problemas es insuficiente. Una de las causas de este vacío ha sido la falta de normatividad con respecto a los límites de limpieza para suelos contaminados con EPT. Muchos EPT, dependiendo de su forma química y concentración, así como de las condiciones y características del sitio en que se encuentren, pueden representar o no, un riesgo ambiental y de salud. Por esta razón, es indispensable que antes de evaluar la posibilidad de remediar un sitio, se determinen las características del contaminante (especie química, concentración, valencia, biodisponibilidad,

solubilidad, toxicidad) y del sitio (pH, tipo de suelo, temperatura, permeabilidad, potencial rédox), a través de una caracterización (Volke *et al.* 2005).

Las sustancias húmicas

Schnitzer (1978), divide a la materia orgánica del suelo, en dos grupos: sustancias no húmicas y húmicas. Las sustancias no húmicas son carbohidratos, proteínas, grasas, ceras, resinas, pigmentos y compuestos de bajo peso molecular (ácidos orgánicos) (Aleksandrova, 1994; Schnitzer y Schulten, 1995 y Yano *et al.* 1998). Las sustancias húmicas (SH) son una mezcla heterogénea de macromoléculas orgánicas, con estructura química compleja, distinta y más estable que su forma original; provienen de la descomposición de residuos de plantas y animales, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982).

Las sustancias húmicas se dividen en tres grupos de acuerdo a su grado de solubilidad en soluciones acidas y básicas concentradas y son: los ácidos húmicos (AH), los ácidos fúlvicos (AF) y las huminas residuales (HR). Los ácidos húmicos y fúlvicos, son macromoléculas aromáticas complejas, muy estables, con estructura polimérica en forma de círculos, cadenas y racimos (Schnitzer y Schulten, 1995), y ciclos aromáticos condensados, con aminoácidos, amino-azucars, péptidos y compuestos alifáticos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982). El contenido en carbono de los ácidos húmicos es mayor al de los ácidos fúlvicos. De un 50 a un 60% y de un 40 a un 50% respectivamente. El contenido en nitrógeno generalmente es mayor también en los ácidos húmicos, de un 2 a un 6%, y de un 0.8% a un 3% en los ácidos fúlvicos. El contenido en oxígeno es mayor en los ácidos fúlvicos que los húmicos: de un 44 a un 50% y de un 30 a un 35% respectivamente. La reactividad de los ácidos húmicos y fúlvicos se debe básicamente a un alto contenido en grupos funcionales oxigenados COOH, OH fenólicos, OH alcohólico y C = O quinónico, hidroxiquinónico y de cetonas α - β insaturadas. El contenido en grupos funcionales oxigenados en los ácidos fúlvicos parece ser mayor que en cualquier otro polímero orgánico presente en la naturaleza.

Ácidos húmicos

Del 75 – 90 por ciento de los restos orgánicos están constituidos por agua. Una fracción pequeña de materia orgánica (MO), está constituida por carbohidratos, aminoácidos, ácidos alifáticos, proteínas, grasas, etc., y en su mayor parte están formadas por las llamadas sustancias húmicas, que son una serie de compuestos de alto peso molecular. Estas sustancias húmicas han sido divididas en grupos de acuerdo a su solubilidad en soluciones ácidas y básicas concentradas: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y húminas. Los ácidos húmicos (AH) son moléculas más grandes y complejas que los ácidos fúlvicos, además presentan contenidos más altos de Nitrógeno (N), pero menor de grupos funcionales (Meléndez, 2003).

Los ácidos fúlvicos (AF) se distinguen de los AH por su coloración más clara, por el contenido relativamente bajo en carbono (menos del 55 por ciento) y por su buena solubilidad en agua, alcohol, álcalis y ácidos minerales. Los fulvoácidos pertenecen al grupo de los ácidos hidroxicarboxílicos y en la hidrólisis ácida forman sustancias reductoras y furfural, tienen alta capacidad de cambio (hasta 700 meq 100 g de sustancia), actúan destructivamente sobre los minerales, son propensos a formar complejos R_2O_3 que poseen gran movilidad, por lo tanto parece ser que ya no existen dudas sobre los AF como grupos independientes de materias húmicas con propiedades distintas a la de los AH. Aparte de los AF propiamente dicho se han descubierto hidratos de carbono, glucósidos, sustancias de naturaleza fenólica, ácidos urónicos y ácidos orgánicos nitrogenados. Datos obtenidos de espectroscopía infrarroja, dan testimonio de la presencia de elementos de naturaleza aromática. Sobre la baja aromatización de los AF hablan los datos de la composición elemental en el cual el porcentaje de carbono es significativamente más bajo y el de hidrógeno supera el de los AH (Meléndez, 2003). Los AH y AF son compuestos orgánicos no muy bien definidos químicamente, que constituyen la parte más elaborada de la descomposición de la materia orgánica. Se derivan de diferentes materias primas originadas principalmente de yacimientos de carbón orgánico conocidos como lignitos, turbas, también de materiales comportados; forman húmatos y fúlvatos con los cationes del suelo, con lo que evitan la retrogradación. Son capaces de fijar los nutrientes

que son aplicados como fertilizantes, disminuyendo las pérdidas por lixiviación e inmovilización. Los AH son activadores de la flora microbiana del suelo con lo que aumenta la mineralización de la materia orgánica y la consecuente liberación de nutrimentos a formas disponibles para las raíces de las plantas. Los AH y AF incrementan la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo y la retención de humedad. Estimulan el desarrollo de la raíz y a nivel foliar aumentan la permeabilidad de la membrana celular facilitando la absorción de nutrimentos y son agentes naturales quelatantes de metales catiónicos, por lo que son utilizados para la nutrición mineral de los cultivos debido a la acción acomplejante que ejercen sus grupos funcionales carboxílicos (COOH) e hidroxílicos (OH) (Molina, 2003). En el Cuadro 2. Se muestra algunos agentes quelatantes, según el poder de complejar (quelatar).

Cuadro 2.- Agentes agrupados de acuerdo con su poder quelatante (Molina, 2003).

Fuerte	Intermedio	Débil
EDTA	Poliflavonoides	Ácido cítrico
HEEDTA	Sulfonatos	Ácido ascórbico
DTPA	Ácidos húmicos	Ácido tartárico
EDDHA	Ácidos fúlvicos	Ácido adípico
NTA	Aminoácidos	
CDT	Ácido glutamínico	
	Polifosfatos	

Los AF y AH tienen efecto en la disponibilidad de metales en el suelo y aceleran la eficiencia de la fitoextracción. Además, no tiene efectos negativos como los quelatos sintéticos, como EDTA ya que disminuyen seriamente el crecimiento de la planta, sin embargo, es un esfuerzo alto el obtener éstos en cantidades suficientes para utilizarlos en la fitoremediación (Evangelou, *et al.*, 2004). Las SH pueden unirse a las superficies de los minerales por diversos mecanismos, incluyendo intercambio de ligadores, interacciones eléctricas, puentes por cationes y el agua e interacciones hidrofóbicas. La absorción de Pb en la superficie prenotada de grupos hidroxilo, es el más importante mecanismo de absorción. El Pb puede formar unión (puente catión) con AF formando un complejo.

III. MATERIALES Y METODOS

Características generales del área

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de sustancias húmicas del Departamento de Ciencias del Suelo del *Campus* principal de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila México a los 25°21′13″ latitud norte, 101°02′01″ y a una altura de 1742 msnm de acuerdo al global positions system (GPS). Se presenta un clima seco y templado con lluvias en verano. Los meses más cálidos son junio julio y agosto con temperaturas máximas de 37°C. Durante enero diciembre se registran temperaturas de hasta -10°C, con heladas regulares en el periodo de diciembre a febrero

Los vientos predominantes son del suroeste durante casi todo el año a excepción del invierno donde predominan del noreste y se presentan con mayor intensidad los meses de febrero y marzo.

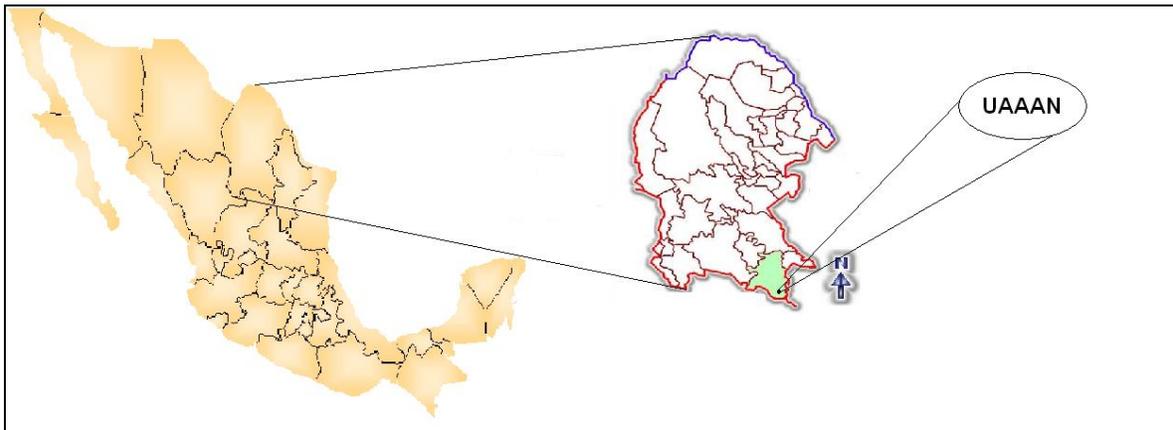


Figura 1. Mapa de localización de la zona de estudio

Metodología

En la etapa de laboratorio, el objetivo fue determinar la acción de ácidos húmicos en la eliminación de plomo (lixiviable) de un suelo limo-arcilloso, y en la etapa de

campo; determinar el comportamiento de los ácidos húmicos y el girasol ornamental, con la finalidad de recuperar suelos contaminados con plomo, para evitar toxicidad y otros daños en plantas, animales y seres humanos.

Se sembró en macetas en el invernadero del área experimental del Departamento de Ciencias del Suelo, del *Campus* principal de la UAAAN, se plantaron en 18 macetas de plástico de 5 kg de suelo, con un suelo contaminado con 480 mg Pb kg⁻¹ de suelo. El suelo fue removido, se aplicaron 5 diferentes tratamientos de ácidos húmicos de Leonardita y un testigo absoluto (Solo Agua). Posterior a ello, se sembró un híbrido de girasol ornamental, cv. "Sunbrigth" (SAKATA Seeds de México, S. A. de C. V.), a la cantidad de 2 plantas por maceta. Enseguida se aplicaron 1, 2, 3, 4 y 5 ml.litro⁻¹ de agua de ácidos húmicos de Leonardita y el sexto tratamiento absoluto (TA) solo agua (López *et al.* 2006). La adición de estos compuestos fue en dos ocasiones: una al momento de la siembra y la otra a los quince días. El riego fue cada cuatro días y no se presentaron problemas con plagas ni enfermedades. Las características generales de los tratamientos se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos de ácidos húmicos de Leonardita, adicionados a un suelo contaminado con plomo.

Numero de tratamientos	Tratamientos	Dosis de AH (ml. litro ⁻¹ de agua)
1	AH1	1
2	AH2	2
3	AH3	3
4	AH4	4
5	AH5	5
6	AH6	0 (Solo agua)

Los tratamientos se distribuyeron de acuerdo al Diseño Experimental Completamente al Azar, con seis repeticiones, donde tres plantas configuraron una repetición. El análisis estadístico consistió en el Análisis de Varianza (ANVA) y

la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se empleó el paquete estadístico UANL.

Las variables evaluadas fueron: materia fresca (MF) y materia seca (MS). La planta fue colectada al ras del suelo y se le midió el contenido de Pb en la raíz, en tejido vegetal de tallo (TVT), de follaje (TVF), hoja inferior (TVHI) y de capítulo (TVC) por calcinación y utilizando ácido nítrico (HNO_3) (vía seca) (espectrofotómetro de absorción atómica (EAA)- tipo Varian) (Perkin Elmer, 2380), al final del ciclo del cultivo. Esto de acuerdo con la norma oficial mexicana PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, la que norma la remediación de sitios contaminados (SEMARNAT, 2005).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el peso fresco y seco del capítulo del girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadros 4.1 y, 5.1).

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos, el peso fresco del capítulo fue de 55g; cuando se aplicaron 2 ml.litro⁻¹ de agua aumentó 43 por ciento, con relación a la dosis anterior. Al aplicar la dosis media (3ml.litro⁻¹ de agua), el peso fresco del capítulo fue similar al agregar la dosis más baja. Cuando se aplicaron 4 ml.litro⁻¹ de agua, se presentó el valor más alto en esta variable, ya que aventajó al testigo absoluto en 37 por ciento; conforme aumentó la cantidad de la sustancia húmica, el valor del peso seco del capítulo del girasol disminuyó. Al aplicar 4 y 5 ml.litro⁻¹ de agua del ácido húmico, se superó al testigo absoluto en 32 y 37 por ciento, respectivamente (figura 2).

Cuadro 4. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	2339.406250	467.881256	1.1057	0.416 NS
Bloques	2	639.593750	319.796875	0.7557	0.502 NS
Error	10	4231.648438	423.164856		
Total	17	7210.648438			

C.V. = 29.26%

Cuadro 4.1. Promedios de peso fresco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	56.199997 A
2	80.333336 A
3	60.569996 A
4	88.880005 A
5	71.726662 A
6	64.103333 A

Cuadro 5. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	195.958496	39.191700	0.7716	0.592 NS
Bloques	2	72.338867	36.169434	0.7121	0.517 NS
Error	10	507.900391	50.790039		
Total	17	776.197754			

C.V. = 33.63%

Cuadro 5.1. Promedios del peso seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	20.333334 A
2	20.033333 A
3	17.166666 A
4	24.600000 A
5	26.500000 A
6	18.500000 A

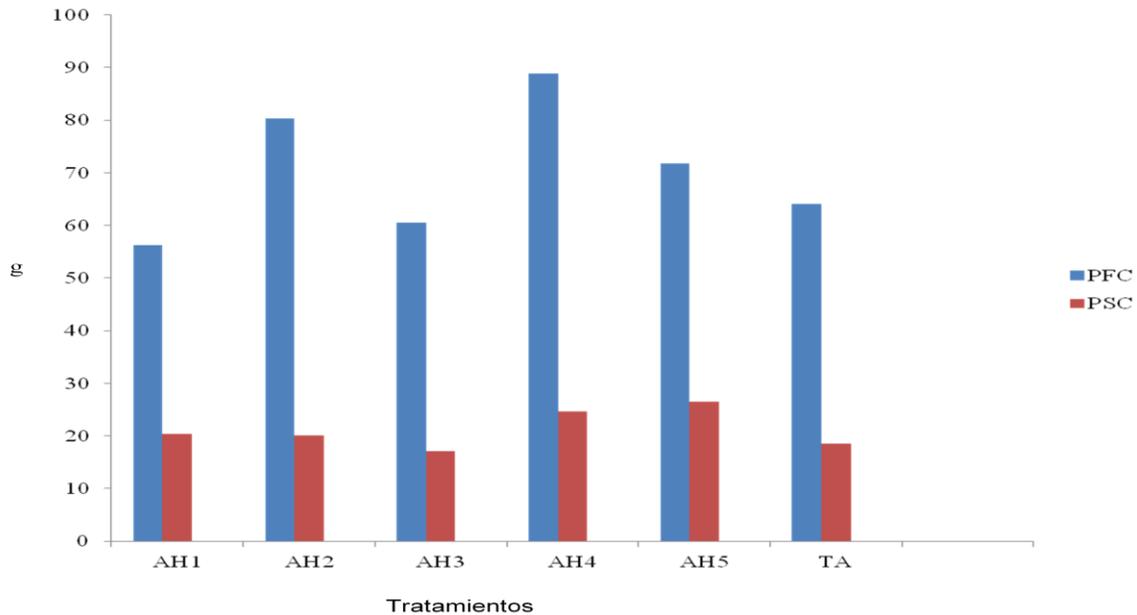


Figura 2. Peso fresco y seco de capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

En la acumulación de plomo en capítulo del girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadro 6.1).

Al adicionar 1ml.litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos, el contenido de plomo en capítulo fue de 20.3 ppm ; cuando se aplicó 2 ml.litro^{-1} de agua disminuyó un 7 por ciento con relación a la dosis anterior. Al aplicar la dosis 3 ml.litro^{-1} de agua el contenido de plomo fue igual a la dosis más baja. Cuando se aplica 4 ml.litro^{-1} de agua se presentó el valor más superior de esta variable, ya que aventajó al testigo absoluto en un 8 por ciento (figura 3).

Cuadro 6. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido del capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	113.111328	22.622265	0.5638	0.728 NS
Bloques	2	19.444336	9.722168	0.2423	0.791 NS
Error	10	401.222168	40.122215		
Total	17	533.777832			

C.V. = 31.50%

Cuadro 6.1. Promedios de lecturas de plomo absorbido por el capítulo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	20.333334 A
2	16.000000 A
3	20.333334 A
4	24.333334 A
5	18.666666 A
6	21.000000 A

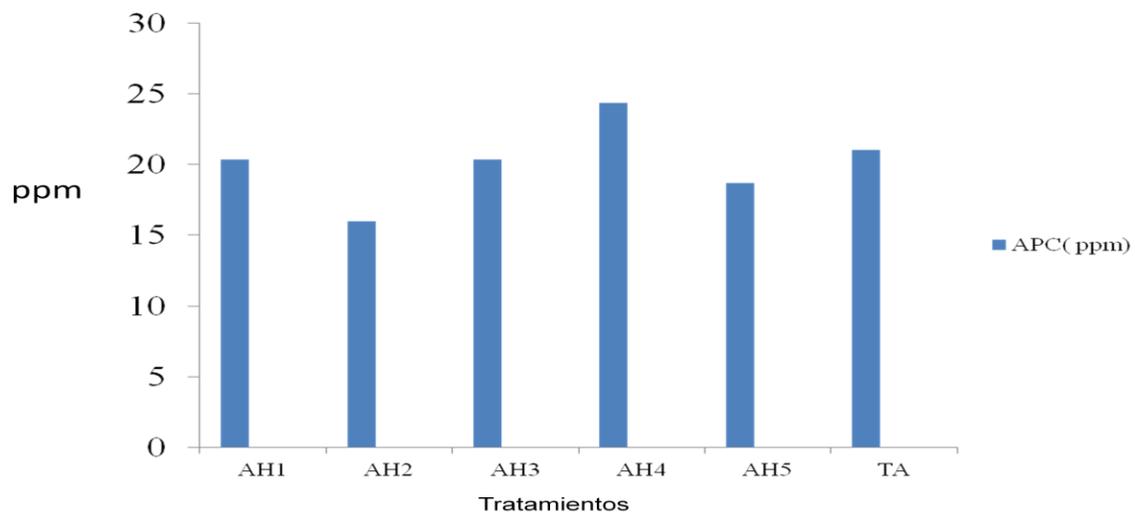


Figura 3. Análisis de plomo absorbido en el capítulo del girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.

En el peso fresco y seco de la hoja del girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadros 7.1 y 8.1).

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos, el peso fresco de hoja fue de 27.6 g; cuando se aplica 2 ml.litro⁻¹ de agua aumento un 34 por ciento con relación a la dosis anterior. Al aplicar la dosis 3 ml.litro⁻¹ de agua del peso fresco de la hoja disminuyo un 9 por ciento en comparación de la dosis más baja. Cuando se aplican 4 ml.litro⁻¹ de agua aumentó un 32 por ciento con relación a la dosis anterior. Al aplicar 5 ml.litro⁻¹ de agua se presenta el valor más alto de esta variable ya que aventajó al testigo absoluto en un 63 por ciento. De la dosis baja a la dosis media, conforme aumenta la cantidad de la sustancia húmica, el valor del peso seco de la hoja del girasol disminuyó, al aplicar 4 y 5 ml.litro⁻¹ de agua del ácido húmico, se superó al testigo absoluto en 27 y 32 por ciento (figura 4).

Cuadro 7. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	607.048828	121.409767	0.5244	0.755 SN
Bloques	2	375.691406	187.845703	0.8113	0.525 SN
Error	10	2315.402344	231.540237		
Total	17	3298.142578			

C.V. = 47.20%

Cuadro 7.1. Promedios del peso fresco de hojas del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	27.600000 A
2	37.166668 A
3	26.500000 A
4	35.066666 A
5	41.043335 A
6	26.066666 A

Cuadro 8. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	51.110840	10.222168	0.7017	0.636 NS
Bloques	2	27.042480	13.521240	0.9282	0.571 NS
Error	10	145.670898	14.567090		
Total	17	223.824219			

C.V. = 24.56%

Cuadro 8.1. Promedios del peso seco de hojas del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	14.133334 A
2	16.266666 A
3	14.066666 A
4	17.233332 A
5	17.933332 A
6	13.599999 A

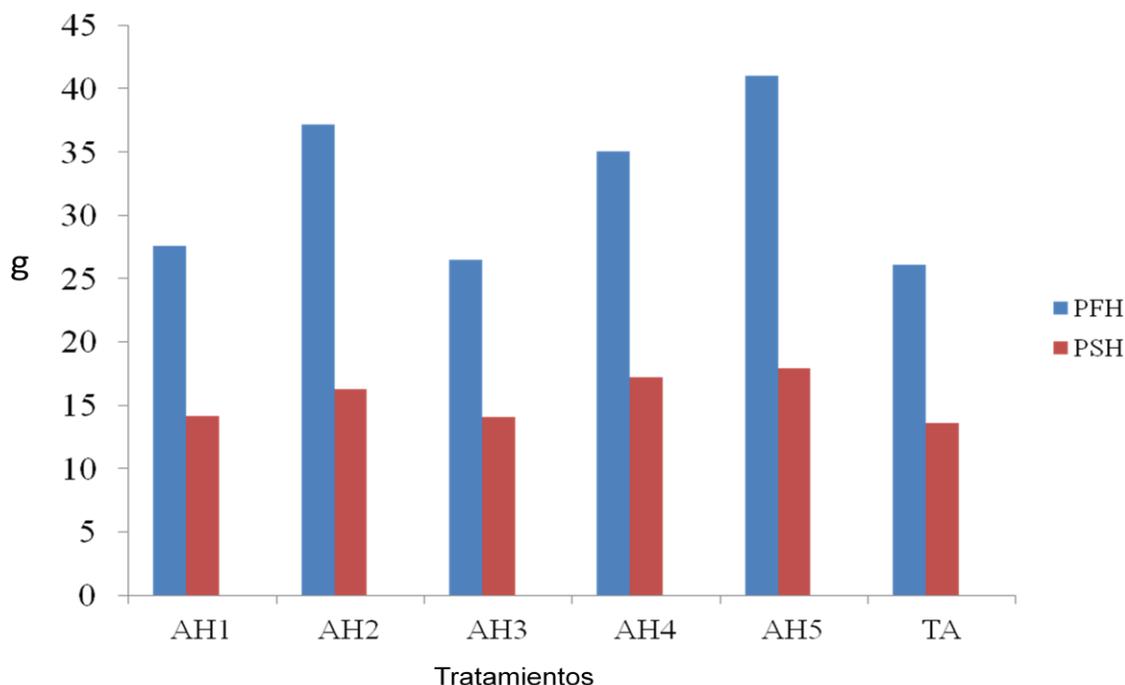


Figura 4. Peso fresco y seco de la hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

En la acumulación de plomo en hoja del girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadro 9.1).

De la dosis baja a la dosis media, conforme aumenta la cantidad de la sustancia húmica el valor de aportación de plomo en la hoja de girasol aumentó: donde al aplicar 2 ml.litro^{-1} de agua se presenta el valor más alto de esta variable ya que aventajó al testigo absoluto en un 57 por ciento. Al aplicar 4 ml.litro^{-1} de agua del ácido húmico disminuye en un 6 por ciento en comparación de la dosis más baja pero mayor que el testigo absoluto con 6 por ciento figura (5).

Cuadro 9. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	1691.109375	338.221863	1.0848	0.425 NS
Bloques	2	53.445313	26.722656	0.0857	0.918 NS
Error	10	3117.890625	311.789063		
Total	17	4862.445313			

C.V. = 30.68%

Cuadro 9.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido en hoja de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	55.000000 A
2	69.666664 A
3	68.666664 A
4	47.333332 A
5	60.333332 A
6	44.333332 A

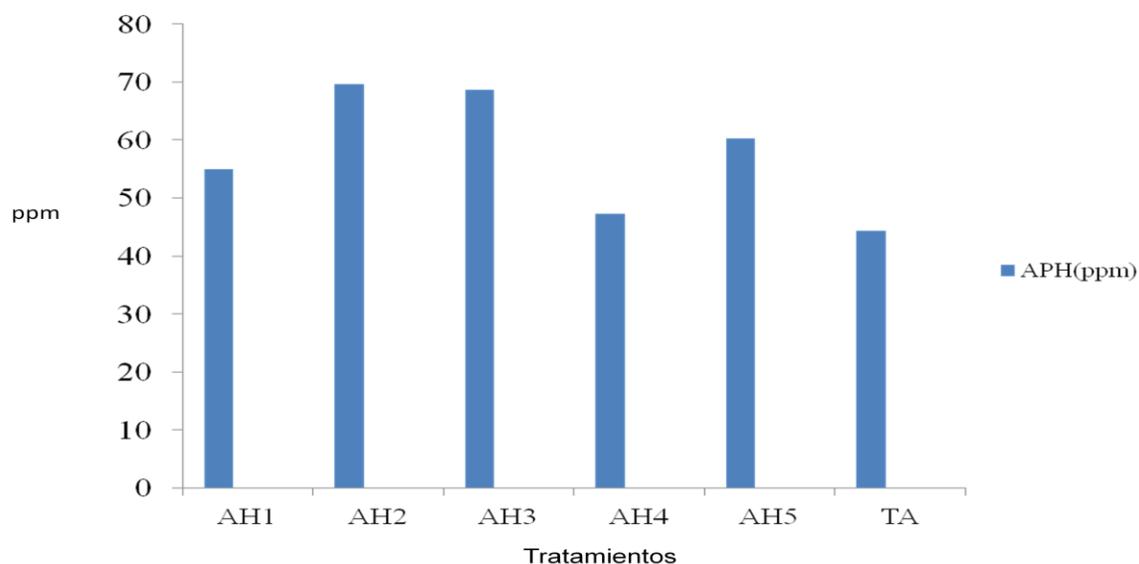


Figura 5. Análisis de plomo absorbido en la hoja del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.

En el peso fresco y seco del tallo de girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadros 10.1 y 11.1).

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos el peso fresco del tallo, fue de 55.6 g; cuando se aplicaron 2 ml.litro⁻¹ de agua aumento un 72 por ciento, con relación a la dosis anterior, cuando se aplica esta dosis se presenta el más alto de esta variable ya que superó al testigo absoluto en un 64 por ciento. Al aplicar la dosis 3 ml.litro⁻¹ de agua el peso fresco del tallo fue menor al agregar la dosis absoluta con un 25 por ciento. De la dosis baja a la dosis 2 ml.litro⁻¹ de agua aumenta la cantidad de peso seco del tallo de girasol con un 14 por ciento, al aplicar 3 ml.litro⁻¹ de agua el valor del peso seco del girasol disminuyó con un 63 por ciento. Al aplicar 4 y 5 ml.litro⁻¹ de agua del ácido húmico, se superó al testigo absoluto en 11 y 12 por ciento respectivamente (figura 6).

Cuadro 10. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	4836.062500	967.212524	1.9044	0.180 NS
Bloques	2	2349.351563	1174.675781	2.3129	0.149 NS
Error	10	5078.867188	507.886719		
Total	17	12264.281250			

C.V. = 32.31%

Cuadro 10.1. Promedios en peso fresco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	55.600002 A
2	95.799995 A
3	49.299999 A
4	70.093338 A
5	85.700005 A
6	61.973331 A

Cuadro 11. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	284.570313	56.914063	1.3653	0.315 NS
Bloques	2	103.552734	51.776367	1.2421	0.330 NS
Error	10	416.853516	41.685352		
Total	17	804.976563			

Cuadro 11.1. Promedios del peso seco del tallo del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	21.766668 A
2	31.000000 A
3	19.566668 A
4	25.666666 A
5	27.700003 A
6	21.466665 A

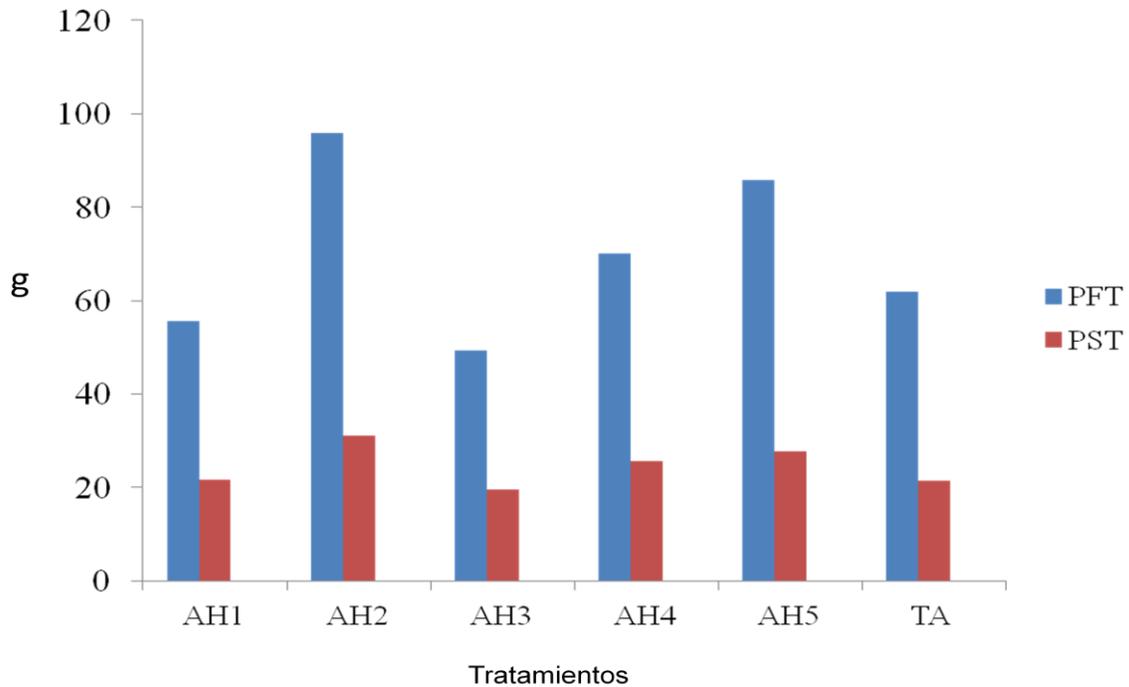


Figura 6. Peso fresco y seco del tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

En la acumulación de plomo en el tallo de girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadro 12.1).

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos, la acumulación de plomo en el tallo de girasol ornamental fue de 47.3 ppm; al aplicar esta dosis se presenta el valor más alto de esta variable ya que aventajó al testigo absoluto; al aplicar 3 ml.litro⁻¹ de agua fue similar al testigo absoluto en un 3 por ciento (figura 7).

Cuadro 12. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	238.279297	47.655861	0.2226	0.943 NS
Bloques	2	604.111328	302.055664	1.4107	0.289 NS
Error	10	2141.220703	214.122070		
Total	17	2983.611328			

C.V. = 36.33%

Cuadro 12.1. Promedio de la lectura de plomo absorbido de tallo de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	47.333332 A
2	39.666668 A
3	41.333332 A
4	37.666668 A
5	35.666668 A
6	40.000000 A

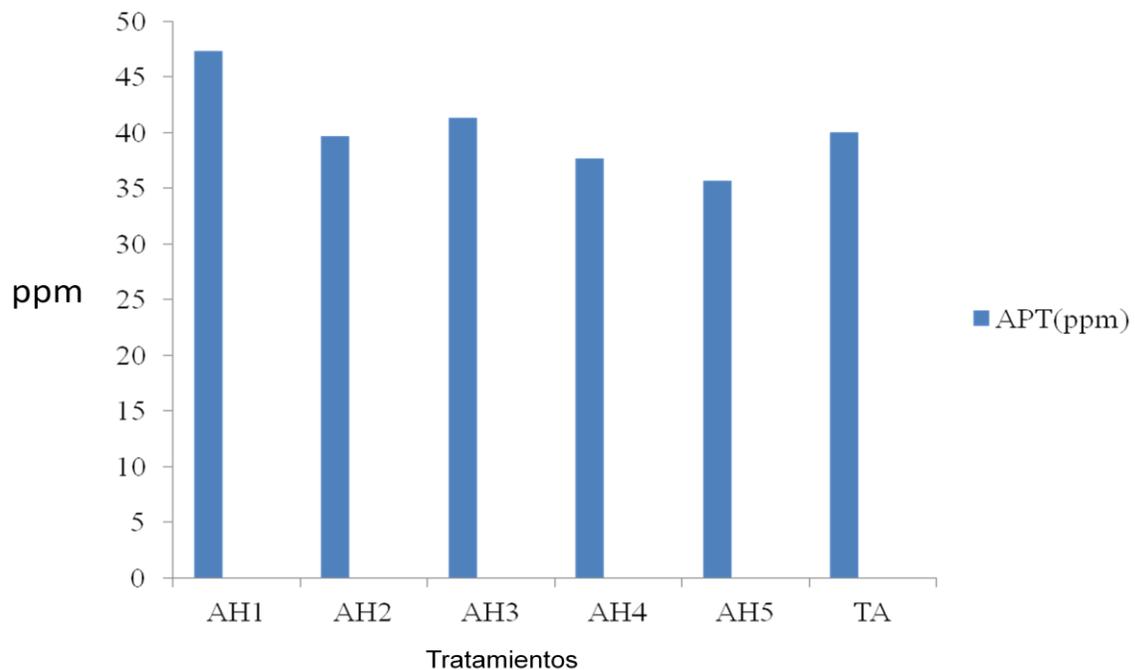


Figura 7. Análisis de plomo absorbido en el tallo de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.

En el peso fresco y seco de la raíz de girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadros 13.1 y 14.1).

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos, el peso de la raíz en fresco fue de 62.8 g; cuando se aplica 2 ml.litro⁻¹ de agua aumento un 64 por ciento con relación a la dosis anterior; esta variable alcanza su mayor valor superando al testigo absoluto con un 68 por ciento. Al aplicar las dosis medias (3, 4, 5 ml.litro⁻¹ de agua), el peso fresco de la raíz presentó la variable más baja en 81, 41 y 29 por ciento con relación a la dosis 2 ml.litro⁻¹ de agua.

Al adicionar 1 ml.litro⁻¹ de agua de los ácidos húmicos, el peso seco de la raíz fue de 18.6 g; cuando se aplican 2 ml.litro⁻¹ aumento un 24 por ciento con relación a la dosis anterior, lo que presenta el valor más alto de la variable, además superó al testigo absoluto en un 24 por ciento. En cuanto a las dosis (3, 4, 5 ml.litro⁻¹) fueron muy similares al testigo absoluto en un 2, 3, 1 por ciento respectivamente (figura 8).

Cuadro 13. Análisis de varianza (ANVA) del peso fresco de raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	4413.570313	882.714050	1.5777	0.252 SN
Bloques	2	3906.453125	1953.226563	3.4910	0.070 *
Error	10	5594.960938	559.496094		
Total	17	13914.984375			

C.V. = 32.35%

Cuadro 13.1. Promedios del peso fresco de la raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	62.899998 A
2	103.58333 A
3	57.060001 A
4	73.406670 A
5	80.076668 A
6	61.616669 A

Cuadro 14. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	51.404785	10.280957	0.5550	0.734 NS
Bloques	2	131.374512	65.687256	3.5458	0.068 *
Error	10	185.252930	18.525293		
Total	17	368.032227			

C.V. = 21.98%

Cuadro 14.1. Promedios de peso seco de raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	18.600000 A
2	23.299997 A
3	19.033335 A
4	19.333334 A
5	18.433334 A
6	18.766666 A

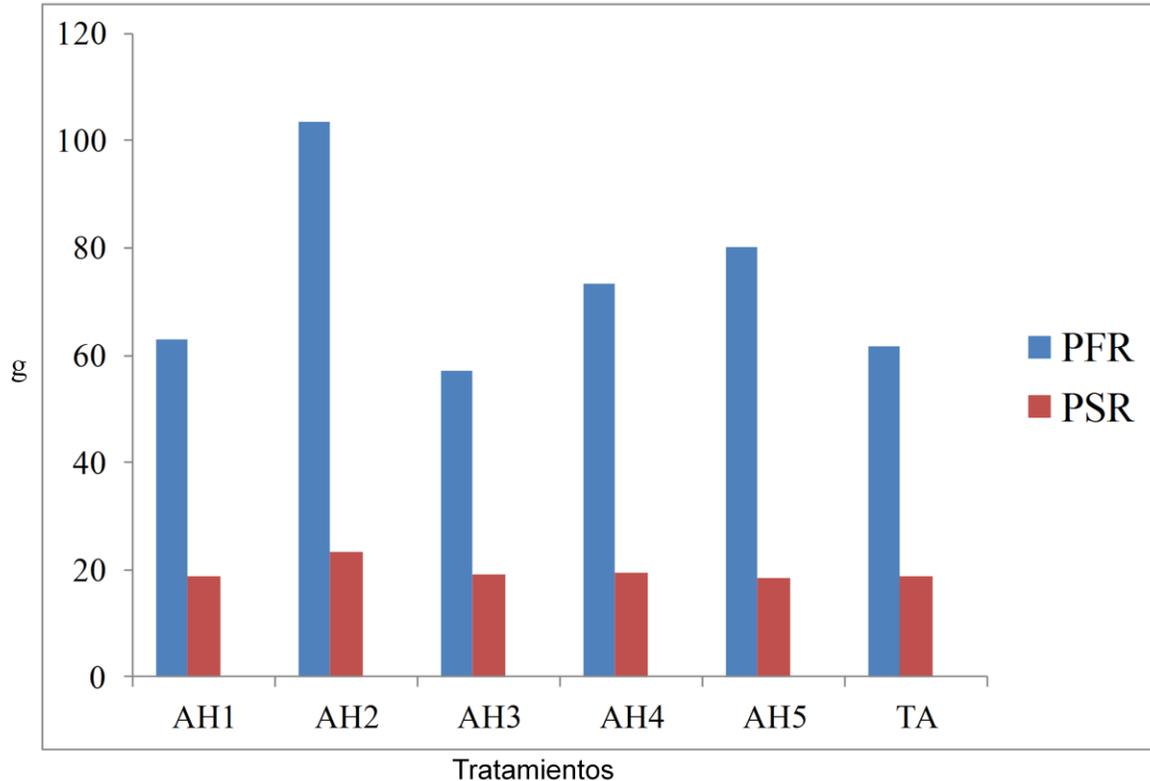


Figura 8. Peso fresco y seco de la raíz de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

En la acumulación de plomo en raíz del girasol ornamental, si hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS de 0.05 Tukey (Cuadros 15.1).

Al adicionar 3 ml.litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos, el contenido de plomo en la raíz fue de 609 ppm presentando el valor más superior de la variable. En cuanto se aplica 2 y 4 ml.litro^{-1} de agua fueron menores al valor superior de la variable en un 12 y 14 por ciento. En cuanto a la dosis más baja con la mayor son similares. (Figura 9).

Cuadro 15. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en la raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	401983.500000	80396.703125	4.0761	0.028 *
Bloques	2	28788.000000	14394.000000	0.7298	0.509NS
Error	10	197238.000000	19723.800781		
Total	17	628009.500000			

Cuadro 15.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido de raíz del girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo con un nivel de significancia de Tukey al 0.05.

Tratamiento	Media
3	609.6667 A
2	540.0000 AB
4	531.0000 AB
1	385.6667 AB
6	384.0000 AB
5	155.3333 B

Nivel de significancia = 0.05

Tukey = 398.1220

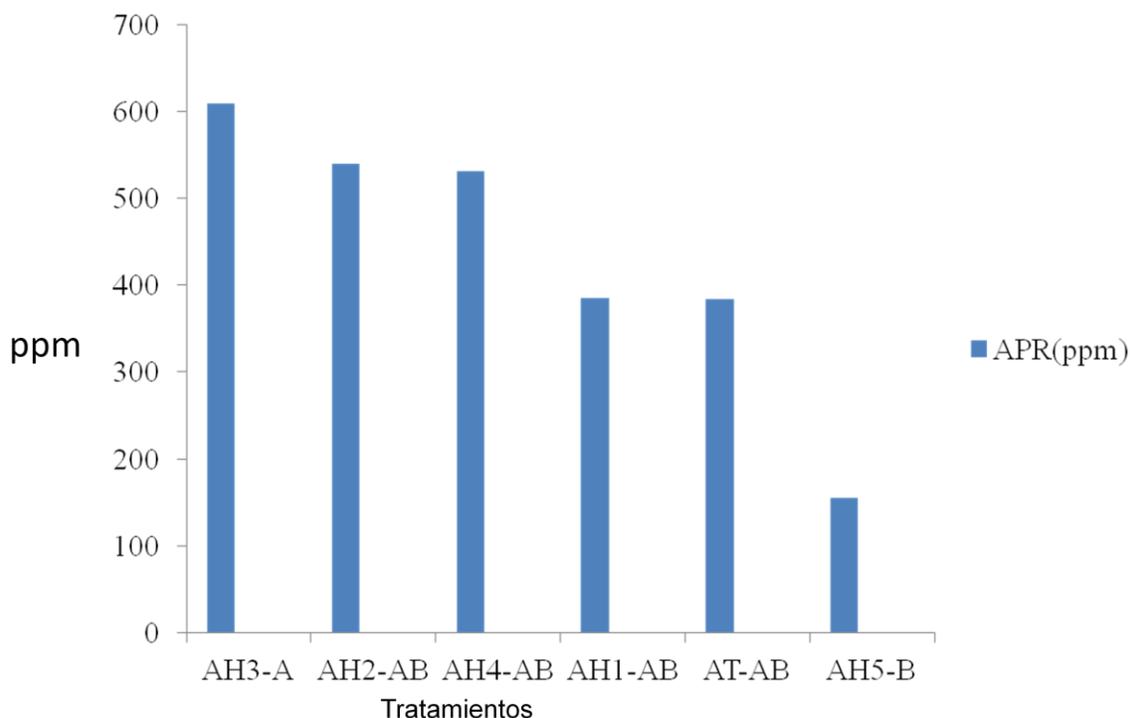


Figura 9. Análisis de plomo absorbido en raíz de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo. Con un nivel de significancia de 0.05, Tukey = 398.1220.

En el peso y seco de la hoja inferior de girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadro 16.1).

Al aplicar 1 ml.litro^{-1} de agua de los ácidos húmicos el peso seco de la hoja inferior fue de 8.5 g; cuando se aplican 2 ml.litro^{-1} aumento un 15 por ciento con relación con la dosis anterior presento ser similar con la dosis ($3, 4 \text{ ml.litros}^{-1}$ de agua) en un 7 y 4 por ciento de diferencia, superando al valor absoluto con un 8 por ciento respectivamente (figura 10).

Cuadro 16. Análisis de varianza (ANVA) del peso seco de la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	6.840576	1.368115	1.4886	0.276 NS
Bloques	2	7.195313	3.597656	3.9146	0.055 *
Error	10	9.190430	0.919043		
Total	17	23.226318			

C.V. = 10.54%

Cuadro 16.1. Promedios del peso seco de la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media
1	8.536667 A
2	9.849999 A
3	9.133334 A
4	9.830000 A
5	8.170000 A
6	9.060000 A

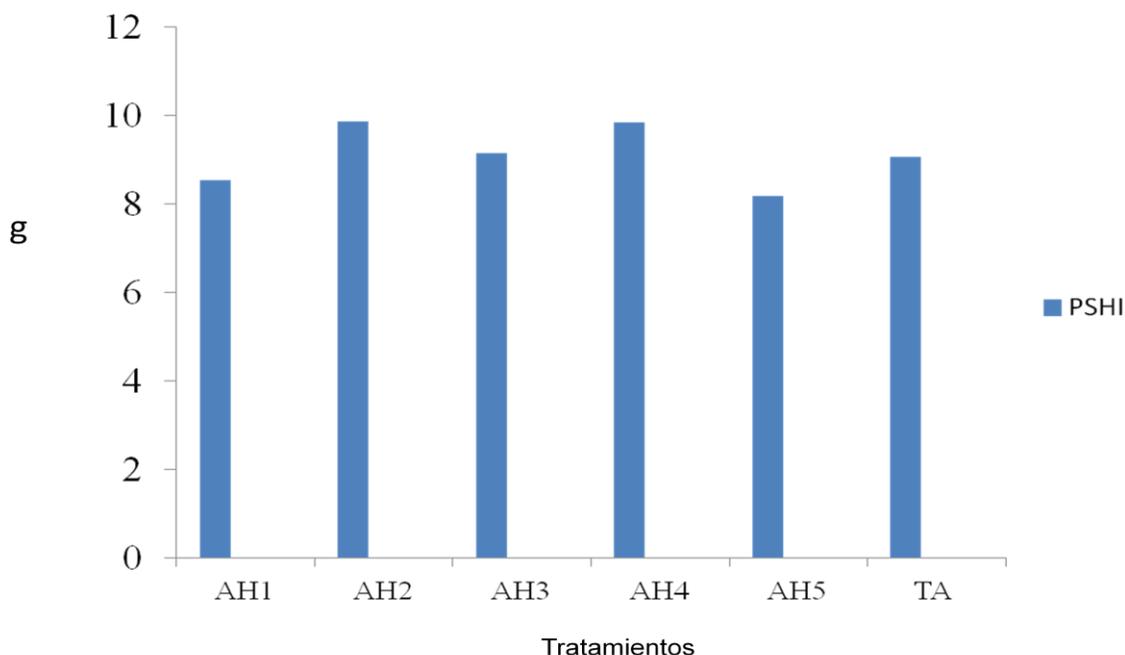


Figura 10. Análisis de peso seco en hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.

En la acumulación de plomo en hoja inferior del girasol ornamental, no hay efecto significativo de los tratamientos al 95 por ciento de confianza; esto de acuerdo a la prueba de medias DMS (Cuadro 17.1).

En esta variable se demuestra que el testigo absoluto sobresalió a todas con 174 ppm de plomo en la hoja inferior. Donde la dosis 3 y 5 ml.litro⁻¹ presenta ser similares en un 1 por ciento (figura 11).

Cuadro 17. Análisis de varianza (ANVA) del contenido de plomo absorbido en la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	5	25628.937500	5125.787598	0.7833	0.585 NS
Bloques	2	15746.781250	7873.390625	1.2032	0.341 NS
Error	10	65439.218750	6543.921875		
Total	17	106814.937500			

C.V. = 84.22%

Cuadro 17.1. Promedios de la lectura de plomo absorbido en la hoja inferior de girasol ornamental, con la adición de ácidos húmicos de Leonardita en un suelo contaminado con plomo.

Tratamiento	Media	
1	73.000000	A
2	103.333336	A
3	65.666664	A
4	94.000000	A
5	66.000000	A
6	174.333328	A

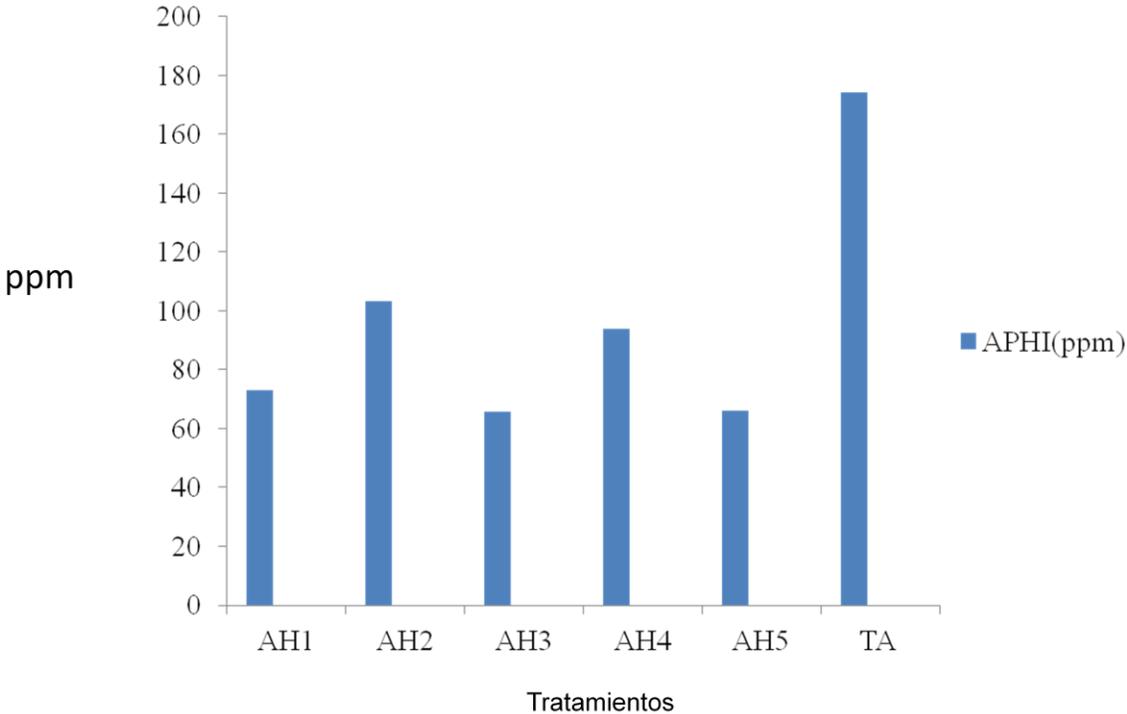


Figura 11. Análisis de plomo absorbido en hoja inferior de girasol ornamental. Con la adición de ácidos húmicos de Leonardita con un suelo contaminado con plomo.

A forma de discusión, se tiene al adicionar las dos dosis más alta de los ácidos húmicos (4 y 5 ml.litros⁻¹ de agua), se presentan los valores más altos del peso seco del capítulo y de las hojas; mientras que a la dosis de 2 ml.litros⁻¹ de agua aplicado se presentaron los valores superiores del peso fresco y seco del tallo y la raíz. Lo anterior concuerda con lo establecido por Han et al (2003) donde dicen las sustancias húmicas, gracias a la gran cantidad de grupos funcionales oxigenados, carboxilos (-CooH⁻), carbonilos (-Coo⁻) y oxidrilos (-OH⁻) sirven para solubilizar a los cationes presentes en el suelo y/o complejar y/o quelatados y posteriormente colocarlos disponibles para la planta.

El girasol ornamental se considera como una planta hiperacumuladora de metales pesados según Salisbury y Ross (1994); considerando lo anterior, y el presente trabajo, al agregar la dosis media se acumuló la mayor cantidad de plomo en la raíz con la dosis de 2 ml.litro⁻¹ de agua. Se presentó el mayor valor en la hoja; pero inferior al valor presentado en la raíz con la dosis alta y baja; las superiores se presentaron en el capítulo y en el tallo respectivamente. Así se puede decir que la cantidad de plomo de mayor a menor, presentada en los órganos vegetales fue: Raíz > Hoja > Capítulo > Tallo. En relación a lo anterior, Evangelou *et al* (2004), comentan que se puede establecer que, los grupos funcionales libres carboxilos (-COOH) de los compuestos orgánicos, actuaron como ligantes naturales del Pb y posteriormente lo colocan disponible para las raíces del girasol. Esto quiere decir que las sustancias húmicas están bien polimerizadas y bien oxidadas, aunque, es necesario considerar el número de cargas eléctricas negativas (de 1 a: donde n es el número total de sitios aniónicos disponibles) de las moléculas orgánicas, las cuales pudieron ser equilibradas por cargas positivas de los cationes (Frund *et al.* 1994). Mientras que para Evangelou *et al.* (2004), todas las moléculas que sirven como agentes quelatantes, sin importar su origen, tienen una capacidad limitada de unir moléculas o iones, dependiendo de la cantidad de sitios de unión (cargas eléctricas negativas), aunque, los ácidos fúlvicos (AF) siempre estarán más oxidados que los ácidos húmicos (AH) independientemente de la fuente de origen.

V. CONCLUSIONES

La dosis media de los ácidos húmicos de Leonardita, realizó un efecto superior en la acumulación de plomo en raíz; las dosis bajas, lo hicieron en la hoja y el tallo, mientras que, la dosis más alta en el capítulo.

VI. LITERATURA CITADA

Aleksandrova I. V. 1994. Interactions of structural units and the strength fixation in molecules of humic-like substances. *Eurasian Soil science*.

Baker, A. J.M., and Walker, P. L. (1997). Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants. In *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects* 155-177.

Barkay, T. y J. Schaefer. 2001. Metal and radionuclide bioremediation: issues, considerations and potentials. *Current Opinion in Microbiology*. 4: 318-323.

Becerril, J. y Navarrete, M.E. 1993. Recopilación, aplicación y evaluación de las tecnologías de estabilización/solidificación para el tratamiento de residuos peligrosos. *CENAPRED. Coordinación de Investigación*. 96 pp.

Bernal, M. P. 1997. Apuntes. Departamento de Conservación del Suelos y Aguas y Manejo de Residuos Orgánicos de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigación Científica. (CSIC). Murcia, España.

Blaylock M. J., D. E. Salts, S. Dushenkov O., C. Gussman, Y. Kapulnik, B. D. Ensley and I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ Sci. Tech.*

Bosecker, K. 2001. Microbial leaching in environmental clean-up programs. *Hydrometallurgy*. 59: 245-248.

Brooks, R.R. (1998). Plants that hyperaccumulate heavy metal. CAB International. 380.

Brow, S. L., Chaney R, L., Angle, J. S., Baker, A. J. M.,(1995). Zinc and Cadmium Uptake by Hyperaccumulator *Thaspi caerulencens* an Metal Tolerant *Silene vulgaris* Grow on Sludge-Amentd Soil, *Environ. Sci. Environ. Sci. And Technol.* 29(6), 1581-1585.

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

Cabrera, F., Maurillo, J. M., Lopez, R. (1999). Accumulation of heavy metals in sunflowers and sorghum plants affected by the Guadamar spill. *The Science of the Total Environment*, 242; 281-292.

Chaney, R.L., Ryan, J.A. Li Y. M, Brown S.L. (1999). Soil cadmium as a threat to human health. Pp. 219-256. In M.J. McLaughlin and B.R. Singh (eds) *cadmium in soils and plants*.

Chaney, R. L., Mallik M., Li Y. M., Brown S.L. y Brewer E.P. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol* 8:279-84.

Chandler, A.J.; Eighmy, T.T.; Hartlén, J.; Hjelm, O.; Kosson, D.S.; Sawell, S.E. van der Sloot, H.A. and J. Vehlow. 1997. *Municipal Solid Waste Incinerator Residues. Studies in Environmental Science 67. Elsevier Science. 975 pp.*

Chen, B., Christie, P., y Li, L. (2001). A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza. *Chemosphere* 42, 185-192.

Cortinas de N. C. 2002. MARCO CONCEPTUAL DE LA REMEDIACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS. Secretaria del medio ambiente y Recursos Naturales. Proyecto de Desarrollo Institucional para la Gestión de Sitios Contaminados PN:99.21.34.3. México.

Christie, P., Li, X., Chen, B. 2004. Arbuscular Mycorrhiza can Depress Translocation of Zinc To Shoots of Host Plants in Soil Moderately Polluted With Zinc. *Plant And Soil*, 261 (1-2), 209-217.

Reeves, R. (2003). Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant and Soil* 249, 57-65.

Davies, F. T. Jr., Jeffrey D. Puryear, R. J. Newton, J. N. Egilla, J. A., y Saraiva, G (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Heliantus annus L.*). *Plant Physiol.* 158, 777-786.

De Oliveira, F., Maria, V. P., y Narasimha, F. (1999). Feasible biotechnological and bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils. *Electronic Journal of Biotechnology* 20-34.

Eccles, H. 1999. Treatment of metal-contaminated wastes: why select a biological process? *Trends in Biotechnology.* 17: 462-465.

Evangelou, M. W. H. Hactice, D. Andreas, S. 2004. The Influence of Humic Acids on the Phytoextraction of Cadmium from Soil. *Chemosphere.* 57 207—213.

Ernst, W. H. O (2000). Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation. *New Phytol* 146, 357-357.

FAO/UNESCO. 1994. World reference base for soil resources. Wageningen/Rome.

Freeman, M. H. 1998. Standard handbook of hazardous waste treatment and disposal. Second edition. *McGraw-Hill.* 1437 pp.

Frund, R. K. Guggenberg, K. Haider, H. Knicker, I. Kogel-knaber, H. –D. Ludeman *et al* . 1994. Recent advances in the spectroscopic characterization of soil humic substances and their ecological relevance. *Z. Pflanzenernahr. Bodenk.* 157:175-186.

Gadd, G.M. 2000. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Current Opinion in Biotechnology.* 11: 271-279.

Garbisu, C., y Alkorta, I. (1997). Biorremediation: Principles and future. *J. Clean Technol., Environ. Toxicol. & Occup. Med.,* 6(4), 351-366.

García I., Dorronsoro C. 2002. Contaminación por metales pesados. Departamento de edafología y química agrícola de España.

Hall, J.L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany.* Vol. 53 (366): 1-11.

Han F. X., Banin A., Kingery, W. L., Triplett, G. B., Zhou L. X., Zheng S. J., Ding W. X. 2003. New approach to studies of Heavy Metal Redistribution in soil. *Advances in Environmental Research*, 8, pp. 113-120

Harter, R. D. and R. Naidu. 1995. Rol of Metal-Organic Complexation in Metal Sorption by Soils, in *Advances in Agronomy*. (Ed.) D. L. Sparks. vol. 55: 219-263.

Heidmann, I. 2004. Influence of Fulvic Acid on Ion Binding and Colloidal Stability of Kaolinite Particles. Doctor of Natural Sciences. Swiss Federal Institute of Technology Zürich. Diss. ETH No. 15531. Germany.

Huang, J.W., Chen, J.J., Berti, W. B., y Cuninghan, s. D. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soil: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Techol.* 31. 800-805.

Instituto Nacional de Ecología. (INE-SEMARNAT) Mexico 64 pp.

Kennish, M.J., (1992). *Ecology of estuaries: anthropogenic effects*. CRC press, Inc, Boca Raton, FL McCullough, J., Hazen, T.C., Benson, S.M., Metting, F.B., and Palmisano, A.C. (1999). *Bioremediation of Metals and Radionuclides... what it is and how it works*. Office of Biological and environmental research of the U.S. department of energy's office of Science. NABIR primer LBNL-42595. Available at: <http://www.lbl.gov/NAVIR/primer>.

Kabata Pendias A. 1995. *Agricultural problems related to extensive trace metal contents of soil*.

Ko, S.-O.; Schlautman, M. A y Carraway, E. R. 2000. Cyclodextrin-enhanced electrokinetic removal of phenantrene from a model clay soil. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1535-1541.

Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V. Motto, H., y Raskin, I. (1999).. *Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils*. *Environmental Science-Technology* 29(5): 1232 (7).

Lasat, C. M. 2002. *Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms*. *Journal of Environmental Quality*. 31(1): 109-120.

Leyval, C., Joner, E., Del Val, C., y Haselwandter, K. (2001). Potencial of arbuscular mycorrhiza for bioremediation. *Mycorrhiza*. 7 (2): 308-317.

Li, Yin-M., Chaney, R., Brewer, E.P., Angle, J.S., y Nelkin, J. (2003). Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grow on nickel-contaminated soils. *Sci Technol* 73, 1463-1468.

López, C. R. 2002. Comportamiento de Substancias Húmicas de Diverso Origen en al Física de un Suelo Limo-Arcilloso y en la Fisiología del Tomate. Tesis Doctoral en Sistemas de Producción. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Lovley, D.R. y J.D. Coates. 1997. Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion in Biotechnology*. 8: 285-289.

Lovely, D.R., y J. D. Coates. (1997). Bioremediation of metal contamination. *Currp. Opin. Environmental remediation. Biotechnology Advances*. 18(1), 23-34.

Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ and McGrath SP 2001. Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation Versus Chemically-Enhanced Phytoextraccion. *Journal of Environmental Quality* 30, 1919-1926.

Martin, H.W., Young T.R., Kaplan, D.I., Simon, L., y Adriano. D.C. (1996). Evaluation of three herbaceous index plant species for bioavailability of soil cadmium, chromium, nickel and vanadium. *Plant Soil* 182, 199-207.

Meléndez, G. 2003. Taller de Abonos Orgánicos. Residuos orgánicos y la Materia Orgánica del Suelo. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Molina, E. 2003. Taller de Abonos Orgánicos. Quelatos como Fertilizantes. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

Pagnanelli F., Moscardini E., Giuliano V., Toro L. 2004. Sequential Extraction of Heavy Metals in River Sediments of an Abandoned pyrite Mining Area: Pollution Detection and Affinity Series. *Environmental Pollution*, 132, pp.

Prasad, M.N. y Freitas, H.M. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*. 6 (3): 285 - 321. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol6/issue3/full/6>

Pulfor I. D. y Watson C. 1993. *J. Environ. Inten.* 29:529-540.

Riser-Roberts, E. 1998. Remediation of petroleum contaminated soils. *Lewis Publishers*. USA.

Robison B. H; Lombi E, Zhao FJ and McGrath S. P. 2003. Uptake and Distribution of Nickel and other Metals in the Hyperaccumulator *Berkheya Coddii*. *New Phytologist* 158, 279-285.

Salisbury, F. B. y C. W. Roos. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana. Mexico, D. F.

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

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

Schnitzer M., H. R. Schulten. 1995. Analysis of Organic Matter in Soil Extracts and Whole Soils by pyrolysis-Mass Spectrometry. *Advances in Agronomy*.

Stevenson F. L. and M. Schnitzer. 1982. Transmission Electron Microscopy of Extracted Fulvic and Humic Acids. *Soil Sci.*

Sauquillo A., Rigol A., and Rauret G. 2003. Overview of the use of Leaching/Extraction

Schnitzer M. 1978. Humic Substances: Chemistry and Reactions: in *Soil Organic Matter*. (Ed). Schnitzer and Khan. Soil Organic Matter. Elsevier, Amsterdam.

Salt, D. E., Smith, R.D., y Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annun Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49,643-668.

Singh, O. V., S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja y R.K. Jain. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination From Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61, 405-412.

U.S. Environmental Protection Agency. 1996. *A Citizen's Guide to In Situ Soil Flushing*, Technology Fact Sheet, EPA/542/F-96/006.

U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Recent developments for in situ treatment of metal contaminated soils. Office of Solid Waste and Emergency Response. *Technology Innovation Office*. Washington D.C. 48 pp.

Valdés, P. F. y V. M. Cabrera M. (1999). La Contaminación por Metales Pesados en Torreón, Coahuila, México. En *Defensa del Ambiente*, A. C. Texas Center for Policy Studies- CILADHAC. Primera Edición.

Van Cauwenberghe, L, *Electrokinetics*. 1997. Ground Water Remediation Technologies Analysis Center, Pittsburg SA. Pp 21

Volke S. T., Velasco T. J. A. y De la Rosa A. 2005. Suelos contaminados por Metales y Metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. S y G. Editores, S.A de C.V.

Volke S. T., Velasco T. J. A., 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. INE-SEMARNAT. México

Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3ª Ed. *Technology Innovation Office, EPA*. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.

Volesky, B y Z.R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. 11 (3): 235-250.

Xiong, Z. T. 1997. Bioaccumulation and physiological Effects of Excess Lead in a Roadside Pioneer Species *Sonchus Olearaceus* L. *Environmental Pollution* 97 (3): 275-279.

Yano Y., W. H. McDowel and N. E. Kinner. 1998. Quantification of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Soil Solution whit Flow-Through Bioreactors. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62:1556-1564. Wang, Z., Y. Xu and Z.