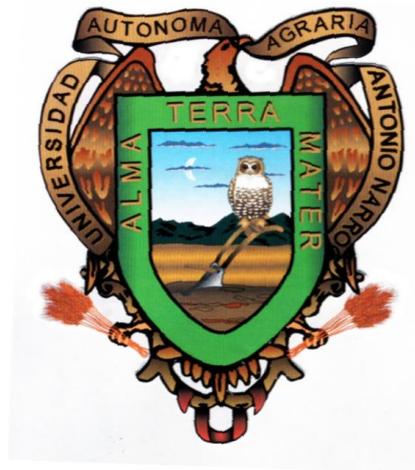


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR  
METALES PESADOS**

**POR**

**YOVANI LÓPEZ GONZÁLEZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL**

**TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN PROCES AMBIENTALES**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**DICIEMBRE DEL 2012.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR METALES  
PESADOS

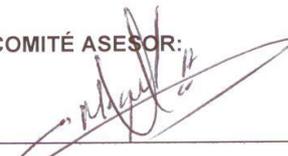
TESIS:

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

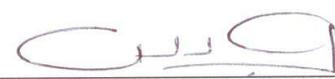
INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES.

APROBADA POR EL COMITÉ ASESOR:

Asesor Principal:

  
MC. MIGUEL ÁNGEL URBINA MARTÍNEZ

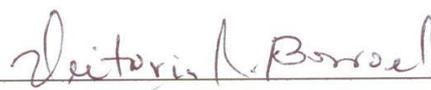
Asesor:

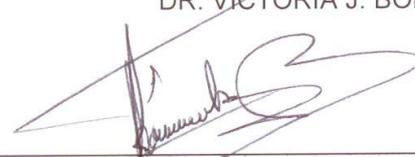
  
MC. CYNTHIA DINORAH RUEDAS ALBA.

Asesor:

  
MC. JESUS LUNA ANGUIANO.

Asesor:

  
DR. VICTORIA J. BORROEL GARCÍA

  
ING. FCO. JAVIER SÁNCHEZ RAMOS  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS.



Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas  
DICIMBRE DEL 2012.

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR METALES  
PESADOS

TESIS:

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

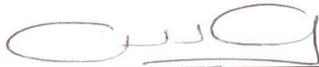
INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

APROBADA POR EL COMITÉ ASESOR:

Asesor Principal:

  
MC. MIGUEL ÁNGEL ÚRBINA MARTÍNEZ

Asesor:

  
MC. CYNTHIA DINORAH RUEDAS ALBA.

Asesor:

  
MC. JESUS LUNA ANGUIANO.

Asesor:

  
DR. VICTORIA J. BORROEL GARCÍA

  
ING. FCO. JAVIER SÁNCHEZ RAMOS  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS.



Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

DICIMBRE DEL 2012.

## **AGRADECIMIENTOS.**

A dios, por la vida, por la familia, por el amor, y por la oportunidad que me ha dado de salir adelante.

A mi madre Ana López González, por darme la vida, por todo su amor y su apoyo incondicional que siempre me ha dado en cada paso que doy en mi vida.

A mi familia por su apoyo, cariño y comprensión. Por su cariño, ayuda y preocupación en especial al a mi padre Darío Velázquez Penagos.

A mi hermana Alicia y mi hermana Daniela por su apoyo siempre por ser e motivo de salir adelante.

A todos los buenos amigos Yuselmi, Daniela, Orsue, Raúl, Dolores, Roger, José, porque gracias a su apoyo, a su compañía, a sus buenos consejos y por esta siempre con palabras de aliento cuando los e necesitado.

A la Sra. Rosario por brindarme toda la confianza, por sus consejos, por su cariño por siempre estar como una segunda mama para mí.

Al M.C. Miguel Ángel Urbina Martínez por haberme ayudado en la elaboración de esta tesis, por todos sus consejos y su gran apoyo en este proyecto. Por su completa disposición, paciencia, conocimiento, y sobre todo por su gran persona

A mis profesores por brindarme su paciencia y transmitirme sus conocimientos a lo largo de la carrera y darnos las herramientas para poder seguir vuestro camino.

A mi Alma Terra Mater que me dio la oportunidad de realizarme como profesionista y haberme cobijado durante estos cuatro años y medios de mi carrera.

## DEDICATORIAS.

A dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Ana por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, por la motivación constante que me a permitido ser una persona de bien, pero mas que nada por su gran amor, por siempre decirme que una profesión seria la mejor herencia que me podría dejar, hoy siéntete orgullosa de tanto esfuerzo que no fue en vano.

A mi padre Darío por haberme apoyado siempre en toda mi formación académica, por apoyarme cuando mas lo necesite, por tener ese gran corazón que dios le dio.

A mis hermanas Alicia y Daniela por recibir cariño y apoyo de ustedes.

A mis tíos principalmente a Fidelina por siempre apoyarme cuando lo necesitaba.

A mis amigos Daniela, Yuzelmi, Rosario, Orsue. Por ser mas que amigos, por permitirme estar a su lado y porque de una forma, ayudaron a que yo saliera adelante.

A mi abuela Elisa por siempre brindarme su apoyo, su cariño y sus buenos consejos.

A Venia Frausto (ojitos) por brindarme su apoyo y sus palabras de aliento para poder terminar esta tesis y por brindarme su apoyo asta ms últimos días como estudiante.

## ÍNDICE DE CONTENIDO.

AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIAS.....	V
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VI
RESUMEN.....	IX
ÍNDICE DE CUADROS.....	XI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVO.....	3
1.2. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2.1.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.3. HIPÓTESIS.....	3
1.4. METAS.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Origen de la contaminación por metales pesados.....	4
2.1.2 Características de los metales pesados.....	5
2.2. Normatividad del plomo en el suelo y agua.....	7
2.2.1. Norma oficial mexicana nom-147-SEMARNAT/SSA1-2004.....	7
2.2.2. Norma oficial mexicana nom-127-SSA1-1994.....	7
2.2.3. Límites máximos permisibles de metales pesados en el suelo según normas extranjeras.....	8
2.2.3.1. Límite máximo de plomo (Pb) en suelo según la EPA.....	8
2.2.3.2. Límite máximo de cadmio (Cd) en suelo según la EPA.....	8
2.2.3.3. Límite máximo de arsénico (As) en suelo según la EPA.....	8
2.3. Efectos contaminantes del Pb.....	8
2.4. Efectos contaminantes del Cu.....	9
2.5. Efectos contaminantes del Cd.....	9
2.6. Efectos contaminantes del As.....	10
2.7. Problemática de la contaminación por metales pesados.....	11
2.7.1. Problemática de la contaminación de Pb en México.....	11
2.7.2. Problemática de la contaminación de Cu en México.....	12
2.7.3. Problemática de la contaminación de Cd en México.....	12
2.7.4. Problemática de la contaminación de As en México.....	13
2.8. Problemática de metales pesados en la Comarca Lagunera.....	14
2.8.1. Problemática de la contaminación de Pb en la Comarca Lagunera.....	14
2.8.2. Problemática de la contaminación de Cd en la Comarca Lagunera.....	14
2.8.3. Problemática de la contaminación de As en la Comarca Lagunera.....	14
2.9. Adaptación de plantas a ambientes contaminados por metales pesados. ..	15
2.9.1. Mecanismos de tolerancia a metales pesados.....	15
2.9.1.2. Mecanismos externos de tolerancia.....	15
2.9.2. Fitoquelatinas.....	16
2.9.3. Genes que codifican metales.....	19
2.9.3.1. Histidina (hi).....	20
2.9.3.2. Prolina.....	21

2.9.4. Almacenamiento de metales en vacuola.....	22
2.10. Fitorremediación. ....	23
2.10.1. Fitorremediación con alfalfa. ....	26
2.10.2. Fitorremediación con zacate ballico. ....	28
2.10.3. Fitorremediación con pasto navajita. ....	29
2.11. Taxonomía de <i>Medicago sativa</i> (alfalfa).....	31
2.12. Taxonomía de <i>Lolium perenne</i> (zacate ballico).....	31
2.13. Taxonomía de <i>Bouteloua gracilis</i> (zacate navajita).....	32
2.14. Usos del zacate ballico.....	32
2.15. Usos del zacate navajita.....	32
2.16. Usos de la alfalfa. ....	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
3.1. Localización geográfica del área de estudio.....	34
3.2. Ubicación del área de estudio. ....	34
3.3. Diseño experimental.....	34
3.4. Aleatorización de las muestras.....	34
3.5. Preparación del sitio de experimentación.....	36
3.6. Preparación de macetas.....	36
3.7. Riego de macetas. ....	37
3.8. Muestras de suelo pretratamiento. ....	37
3.9. Análisis de suelo pretratamiento y postratamiento .....	37
3.10. Análisis de metales pesados presentes en suelo.....	37
3.11. Muestras de agua de riego pretratamiento.....	37
3.12. Análisis de metales pesados en agua de riego. ....	39
3.13. Siembra de las semillas.....	39
3.14. Días de germinación.....	39
3.15. Altura de plantas. ....	39
3.16. Temperatura del medio ambiente.....	40
3.17. Temperatura del suelo.....	40
3.18. Obtención de muestras de lixiviados. ....	40
3.19. Análisis de metales pesados en lixiviados.....	40
3.20. Obtención de muestras de suelo postratamiento. ....	41
3.21. Obtención de muestras de plantas (raíces, tallos y hojas).....	41
3.22. Análisis de metales pesados en plantas.....	41
3.23. Análisis estadístico de los datos.....	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	43
4.1. Análisis de suelo .....	43
4.1.2. Propiedades fisicoquímicas del suelo. ....	43
4.2. Análisis del agua de riego. ....	44
4.2.1. Contenido de metales pesados en el agua de riego .....	44
4.3. Análisis del contenido de metales pesados en suelo. ....	44
4.3.1. Contenido de metales pretratamiento.....	44
4.4. Datos de crecimiento de planta. ....	46
4.5. Análisis del contenido de metales pesados en suelo postratamiento.....	48

4.6. Propiedades fisicoquímicas del suelo al fin del tratamiento. ....	48
4.7. Análisis de los lixiviados. ....	49
4.8. Análisis del contenido de plomo en raíz, tallo, hoja en las plantas. ....	51
4.9. Análisis del contenido de cobre en raíz, tallo, hoja en las plantas. ....	55
4.10. Análisis del contenido de cadmio en raíz, tallo, hoja en las plantas. ....	57
4.11. Análisis del contenido de arsénico en raíz, tallo, hoja en las plantas. ....	59
4.12. Correlaciones entre características fisicoquímicas y los metales pesados en las raíces, tallos y hojas de las plantas .....	60
V. CONCLUSIONES. ....	63
VII. BIBLIOGRAFÍA .....	64
VIII. APÉNDICE. ....	77

## RESUMEN.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de los invernaderos de la UAAAN. U.L. y en el laboratorio de suelos de la Universidad. La muestra de suelo se acondicionó para determinar sus características fisicoquímicas y las concentraciones totales de metales pesados (Pb, Cu, Cd, As). Los resultados mostraron contenidos de metales pesados en el suelo que exceden los límites máximos permisibles según la norma oficial NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. La muestra de suelo presentó un pH. de 7.8, una capacidad de intercambio catiónico de 6 meq/100 g, una conductividad eléctrica de 4.89 mS/cm, un % de materia orgánica de 0.718 y una densidad aparente de 1.4 g/cm<sup>3</sup>. Asimismo se detectaron altas concentraciones totales de Pb (4245 mg kg<sup>-1</sup>), Cu (2600 mg kg<sup>-1</sup>), Cd (1600 mg kg<sup>-1</sup>) As (100 mg kg<sup>-1</sup>). Se evaluaron 4 tratamientos los cuales son testigo (suelo sin planta), alfalfa (*Medicago sativa* L.), zacate ballico (*Lolium perenne* L.) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.). La evaluación del contenido de metales pesados en el suelo postratamientos reveló una disminución de los metales pesados. En los tratamientos con plantas los contenidos de metales pesados se encontraron por encima de los límites máximos permisibles según la norma oficial NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, lo cual se comprobó con el análisis estadístico (P< 0.05), relacionando a la alfalfa, zacate ballico y navajita con un efecto positivo de fitorremediación. En las plantas los contenidos de metales pesados se presentaron en un orden jerárquico de Pb > Cu > Cd > As. Los tiempos óptimos de corte de la alfalfa son a los 30 días de plantación, en el zacate ballico son a los 30 días de la plantación y el zacate navajita oscila entre 60 a 90 días después de su plantación.

**Palabras claves:** suelo, fitorremediación, metales pesados, alfalfa, zacate navajita, zacate ballico.

## ABSTRACT

This work was performed in facilities UAAAN greenhouses. U.L. and the soil laboratory of the University. The soil sample was conditioned to determine their physicochemical characteristics and total concentrations of heavy metals (Pb, Cu, Cd, As). The results showed levels of heavy metals in the soil that exceed the maximum permissible limits according to the Official NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. La soil sample was pH. of 7.8, cation exchange capacity of 6 meq/100 g, electrical conductivity of 4.89 mS / cm, a% organic matter of 0,718 and an apparent density of 1.4 g/cm<sup>3</sup>. Furthermore, high levels of total Pb (4245 mg kg<sup>-1</sup>), Cu (2600 mg kg<sup>-1</sup>), Cd (1600 mg kg<sup>-1</sup>) As (100 mg kg<sup>-1</sup>). We evaluated 4 treatments which are control (soil without plant), alfalfa (*Medicago sativa* L.), ryegrass (*Lolium perenne* L.) and blue grama (*Bouteloua gracilis* L.). The evaluation of the content of heavy metals in the soil decreased post treatments revealed heavy metals. In treatments with plants the contents of heavy metals were found above the maximum permissible limits according to the official standard NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, which was checked with statistical analysis ( $P < 0.05$ ), relating to the alfalfa, ryegrass and grama grass with a positive effect of phytoremediation. In plants the contents of heavy metals are presented in a hierarchical order of Pb > Cu > Cd > As optimal times of alfalfa are cut at 30 days of planting, in ryegrass are within 30 days of the plantation and blue grama ranges from 60 to 90 days after planting.

**Keywords:** soil, phytoremediation, heavy metals, alfalfa, blue grama, ryegrass.

## ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Resultado del diseño bloques al azar.....	35
Cuadro 2. Variación del número de semillas.....	36
Cuadro 3. Parámetros fisicoquímicos del suelo y el método empleado.....	38
Cuadro 4. Metodología del análisis de metales pesados en suelo.....	38
Cuadro 5. Resultado de las características fisicoquímicas del suelo.....	43
Cuadro 6. Resultado de las concentraciones de metales pesados en agua....	44
Cuadro 7. Resultado del contenido de metales pesados en el suelo.....	44
Cuadro 8. Datos del crecimiento de la planta.....	46
Cuadro 9. Resultado de la concentración final de metales pesados en el suelo al tercer periodo .....	81
Cuadro 10. Resultado de las propiedades fisicoquímicas del suelo postratamiento.....	48
Cuadro 11. Resultado del contenido de metales pesados en los lixiviados.....	50
Cuadro 12. Resultado de los contenidos de plomo en las plantas. ....	51
Cuadro 13. Resultado de los contenidos de cobre en las plantas por periodo.....	55
Cuadro 14. Resultado de los contenidos de cadmio en plantas por periodos...57	
Cuadro 15. Resultados de los contenidos de arsénico en las plantas por periodos.....	59
Cuadro 16. Resultado de las relaciones entre metales pesados en plantas y las propiedades del suelo.....	60
Cuadro 17. Resultado de los pesos de las plantas durante el periodo de experimentación.....	77
Cuadro 18. Resultados del análisis estadístico y mejor modelo de predicción para alfalfa.....	78
Cuadro 19. Resultados que establecen el mejor modelo de predicción para zacate ballico.....	79
Cuadro 20. Resultado que establece la predeterminación a la mínima absorción del Pb en zacate ballico por el Cu.....	79
Cuadro 21. Resultado que establece la regresión del experimento y el mejor modelo de predicción para zacate navajita.....	80
Cuadro 22. Resultado del modelo que relaciona al Pb con los contenidos de Cd y as en suelo.....	80

## I.- INTRODUCCIÓN.

La generación de empleos por la explotación de los recursos minerales es muy importante en estos días. Los residuos de los procesos presentan un problema que requiere una solución. Estos residuos son tóxicos y generan la polución en todo el mundo.

La polución de la biosfera con metales tóxicos tiene acelerada dramáticamente a la ciencia desde los comienzos de la revolución industrial (Memon *et al.*, 2001). Los metales pesados son un grave problema ambiental, debido a que se encuentran de manera persistente en diferentes sitios, por lo que se vuelven peligrosos para el ser humano y los animales agravando su salud. (Yoon *et al.*, 2006, Milner y Kochian, 2008).

Este mismo problema se presenta en varias naciones del mundo moderno, los cuales generan enormes sitios contaminados con metales pesados, en especial los países de primer mundo como los Estados Unidos de Norte América, Rusia y la Unión Europea.

Un ejemplo son los vertidos de *Aznalcóllar* que tuvieron lugar en 1998, en la provincia de Sevilla, como consecuencia de la rotura de una balsa que contenía concentraciones elevadas de metales pesados procedentes de una mina de esta localidad (Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008). Se han determinado niveles de dos metales pesados, plomo y cadmio, en distintas conservas de almeja, berberecho y navaja, comercializadas en España (Gómez-Álvarez *et al.*, 2004). A causa de la presencia de más de estos siete grandes grupos industriales se han contaminado los suelos particularmente con Cd y Cr. Estos sitios fueron reportados como suelos de uso agrícola de la región industrial del oeste de Tabriz, Irán. (Hajiboland, 2005).

En México existe este problema desde tiempos de la revolución industrial. En la actualidad las empresas mineras generan empleos y dinero a el país, al igual que las empresas del rubro acerero, químicas, petroquímicas y maquilas. Pero sus subproductos requieren ser manejados y controlados. Esta economía genera contaminación en varios estados del país dañando a trabajadores pero sobre todo al sector salud que cada año gasta dinero en curar a los intoxicados por elementos tóxicos.

La explotación y beneficio de los recursos minerales, históricamente no controlados (desde un punto de vista ambiental), en el distrito minero de Sta. María de la Paz, ha provocado que se presente una extensa contaminación de suelos y sedimentos por arsénico y metales pesados (Pb, Zn, Cu) en el área de Villa de la Paz -Matehuala, S.L.P. (Monroy *et al.*, 2010). En el Valle del Mezquital, desde hace más de 100 años se han empleado aguas residuales para riego directo, a consecuencia de esto se han acumulado en estos suelos metales pesados (Méndez *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de las unidades biológicas: alfalfa, (*Medicago sativa* L.), zacate ballico (*Lolium perenne* L.) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.), para acumular metales pesados como plomo, cobre, cadmio y el metaloide arsénico, que se encuentran presentes en el suelo del predio de MET MEX Peñoles ubicado en la ciudad de Torreón, Coahuila.

## **1.1. OBJETIVO**

### **1.2. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la fitorremediación de metales pesados en un suelo empleando las unidades biológicas: alfalfa, (*Medicago sativa* L.), zacate ballico (*Lolium perenne* L.) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.)

#### **1.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar las concentraciones de Pb, Cu, Cd y As en alfalfa, zacate ballico y zacate navajita.

Determinar el tiempo óptimo de la máxima extracción de Pb, Cu, Cd y As por las plantas.

Determinar el número óptimo de plantas a establecer.

### **1.3. HIPÓTESIS.**

Las plantas (alfalfa, zacate ballico y zacate navajita) absorben altas concentraciones de Pb, Cu, Cd y As.

Los tratamientos tienen un tiempo de fitorremediación no mayor a 30 días.

Con un número mayor de plantas ocurrirá mayor absorción de metales pesados.

### **1.4. METAS.**

Evaluar cuatro tratamientos para fitorremediación.

Evaluar cuatro metales pesados en un único tipo de suelo.

Evaluar las correlaciones positivas o negativas entre las tres plantas y los cuatro metales pesados (Pb, Cu, Cd, As).

Evaluar la cantidad de plantas necesarias para fitorremediar el suelo contaminado.

## II.- REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Origen de la contaminación por metales pesados.

Los metales pesados se encuentran generalmente como componentes naturales en la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos. La contaminación en suelos por metales pesados ocurre cuando estos son irrigados con aguas procedentes de desechos de minas, aguas residuales contaminadas de parques industriales y municipales y filtraciones de presas de jales. También el uso de fertilizantes ha venido a causar el incremento de algunos compuestos en los suelos, que en ocasiones han causado algunos cambios en sus características (Prieto-Méndez *et al.*, 2009).

Las concentraciones anómalas de metales pesados en los suelos pueden deberse básicamente a dos tipos de factores: causas naturales y causas antropogénicas. Las causas naturales pueden ser entre otras, actividad volcánica, procesos de formación de suelos, meteoros, erosión de rocas, terremotos, tsunamis, etc. Las causas antropogénicas pueden ser la minería, la combustión de carburantes fósiles, la industria a través de los vertidos, emisiones, residuos (incineración, depósitos), como algunos pesticidas y fertilizantes, etc. (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

En los últimos años, la contaminación por estos metales han aumentado a causa de actividades industriales tales como minería, fundición de metales, enchapado eléctrico (*electroplating*), uso y purificación de Cd, quema de combustibles fósiles, uso de fertilizantes fosfatados, fabricación de baterías, cemento, pigmentos y plásticos. Sus principales fuentes naturales son las erupciones volcánicas, las quemadas forestales y el transporte de partículas del suelo por el viento (Pernia *et al.*, 2008).

La abundancia de estos sitios con elementos tóxicos ocurre eventualmente debido a procesos industriales, residuos de la minería y corrosión de estructuras galvanizadas los cuales originan una contaminación del medio ambiente (Ortiz-Escobar *et al.*, 2010, Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008).

La mitigación de estos contaminantes en “*intro*” no causan que se contaminen áreas de tierra o depósitos cercanos a suelos y la ingesta de metales pesados contenidos en lodos residuales son ejemplos de eventos que están contribuyendo hacia la contaminación de nuestros ecosistemas (Atimanav y Adholeya, 2004).

El agua es usada como materia prima indirecta, para el lavado, hervido, congelando o como una parte de los procesos de manufacturación lo cual forma parte de las fuentes primarias de polución de aguas sépticas municipales, aguas salubres así mismo depósitos de combustibles fósiles, minería y fundición de minerales metálicos, fertilizantes y pesticidas que contribuyen a las continuas depositaciones de metales tóxicos que se acumulan en el medio ambiente (Gratao-Lupino *et al.*, 2005, Roongtanakiat *et al.*, 2007 y Memon *et al.*, 2001).

Los metales en el agua se encuentran disueltos, como productos provenientes de industrias en forma coloidal, adheridos a materiales en suspensión como la materia orgánica y en fases de minerales cristalizados en ojos de agua los cuales contienen altas concentraciones de elementos metálicos como lo son Zn, Pb, Cu, Cd y As (González-Fierro *et al.*, 1994, Dahmani-Mullera *et al.*, 2002).

### **2.1.2 Características de los metales pesados.**

El término de metal pesado refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una alta densidad relativa y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas. Los ejemplos de metales pesados o algunos metaloides, incluyen el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), y plomo (Pb), entre otros. No pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos. (Prieto-Méndez *et al.*, 2009).

Se definen como “metales pesados” aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a  $5 \text{ g cm}^3$  cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). En realidad quizás sea más apropiado hablar de

elementos de tipo metálico que poseen orbitales atómicos profundos (“d” o “f”). Posiblemente esta presencia de orbitales profundos es realmente el aspecto clave que les confiere un comportamiento químico análogo en el interior de la célula, permitiendo agrupar a la mayoría de ellos bajo la denominación “metales pesados”, aunque realmente se agrupen elementos diversos (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

De los 90 elementos presentes en las capas de la tierra aproximadamente, cerca del 80 % son metales y 60 % son metales pesados con un alto peso específico de  $5 \text{ g cm}^3$ . Basada en la coordinación de química, considera una clasificación relevante en base a aspectos biológicos de los metales que se encuentran normalmente en tres categorías, clase A con afinidad por ligandos que contienen O, clase B con afinidad por ligandos que contienen N o S y *bordelina* (Sharma y Dietz, 2006).

Los metales pesados son aquellos que presentan una densidad mayor que  $4 \text{ g cm}^3$ , que son tóxicos o venenosos a bajas concentraciones, con un elevado peso atómico, tienen una masa atómica elevada, particularmente los de transición que son tóxicos y no son metabolizados por los organismos vivos, tales como Cd, Cr, Hg y Pb y pueden acumularse en tejidos vegetales y animales contaminando el medio ambiente (Baudran *et al.*, 2010, Memon *et al.*, 2001).

Pasado cierto umbral los metales se vuelven tóxicos. Como el B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Fe, Se y Zn y el metaloide As. Los elementos tales como el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, Tl resultan ser altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos (Prieto-Méndez *et al.*, 2009, Henry, 2010).

Algunos de estos metales son micronutrientes necesarios para el crecimiento de la planta, como lo son Zn, Cu, Mn, Ni y  $\text{Co}_{26}$ , mientras que a otros no se les tiene conocimiento de función biológica, como lo son Cd, Pb y Hg (Atimanav y Adholeya, 2004, Gaskin *et al.*, 2003).

La polución del suelo por metales difiere de la polución del aire o agua, porque los metales pesados persisten en el suelo y en la biosfera por muchos periodos (Prabha *et al.*, 2007). Son altamente inmóviles en el perfil del suelo lo cual resulta en extremo difícil su remoción por medio de plantas (Kuzovkina *et al.*, 2009).

A partir de las rocas de minería, jales y escoria se forman partículas finas que tienen el potencial de contaminar los suelos más próximos o de migrar a otros sitios como sedimentos en las aguas de estos procesos con lo cual se aumenta más la contaminación por las actividades mineras originales (Ortiz-Escobar *et al.*, 2010). Estos elementos se encuentran por lo general en una forma no biodisponible, poco soluble en agua o unido a partículas del suelo (Pernia *et al.*, 2008).

## **2.2. Normatividad del plomo en el suelo y agua.**

### **2.2.1. Norma oficial mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004**

La normatividad en México hace referencia a un límite máximo permisible para el plomo ( $750 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) para suelos con uso industrial, la norma vigente específica, que a esta concentración debe realizarse remediación.

La normatividad en México hace referencia a un límite máximo permisible para el cadmio ( $450 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) para suelos de uso industrial, la norma vigente específica, que a esta concentración debe realizarse una remediación.

La normatividad en México hace referencia a un límite máximo permisible para arsénico ( $260 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) para suelos de uso industrial, la norma vigente específica, que a esta concentración debe realizarse una remediación.

### **2.2.2. Norma oficial mexicana NOM-127-SSA1-1994.**

Se refiere a la concentración total en el agua, el límite máximo permisible del Pb en agua es de  $0.025 \text{ ml/L}$ , As (arsénico) es de  $0.05 \text{ ml/L}$ , y Cadmio es de  $0.005 \text{ ml/L}$  (NOM-127-SSA1-1994. 2009).

### **2.2.3. Límites máximos permisibles de metales pesados en el suelo según normas extranjeras.**

#### **2.2.3.1. Límite máximo de plomo (Pb) en suelo según la EPA.**

Debe realizarse la remediación del suelo en áreas de recreación infantil con un valor de 400 mg Kg<sup>-1</sup> y 1200 mg Kg<sup>-1</sup> de Pb en áreas de uso común (EPA (2001)).

#### **2.2.3.2. Límite máximo de cadmio (Cd) en suelo según la EPA.**

La EPA (1992) contempla un rango de 3 - 10 mg Kg<sup>-1</sup> de Cd en suelo superficial, considerando sitios excesivamente fitotóxicos aquellos que lo rebasan.

#### **2.2.3.3. Límite máximo de arsénico (As) en suelo según la EPA.**

La concentración máxima en suelo de As es de 100 mg Kg<sup>-1</sup> y recomienda realizar un proceso de remediación de sitio cuando se alcanza ese valor (USEPA 2001).

### **2.3. Efectos contaminantes del Pb.**

Según lo reportado por varios autores, el plomo puede causar diversos daños en las plantas y en diferentes grados de acumulación. En algunas especies, la acumulación de plomo, a medida que se aumenta las dosis en el suelo hasta niveles menores a 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de Pb en suelo, el cual tiende a incrementarse rápidamente en los órganos de la planta las cuales no lo toleran y mueren (Prieto-Méndez *et al.*, 2009).

El plomo es uno de los contaminantes más comunes en el suelo y se le considera como uno de los más importantes causantes de polución en el medio ambiente (Kuzovkina *et al.*, 2009).

Para la biota, incluido el ser humano, el plomo es un elemento no esencial y potencialmente nocivo. Cuando este metal alcanza niveles tóxicos provoca la disminución de la fotosíntesis vegetal y el desarrollo de anemia en mamíferos. En las plantas además del efecto ya mencionado, se le atribuye la reducción en el crecimiento, en la biomasa y la transpiración; además de lesiones cromosómicas,

inhibición de la división celular e interferencia con enzimas ligadas al metabolismo del nitrógeno (INE. 2010).

#### **2.4. Efectos contaminantes del Cu.**

El cobre causa desbalance iónico, alteración de la permeabilidad de la membrana celular, reducción del crecimiento e inhibición de la fotosíntesis. (Bravo-Landro-Varela, 2010)

Se observó significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor acumulación del Cu al incrementarse su concentración en el suelo, destacando un efecto positivo en el suelo con una concentración de  $20 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cu, mejorando sus características agronómicas (Khalil-Gardezi *et al.*, 2006).

El aumento de la concentración de cobre en los suelos debido a distintas fuentes antrópicas puede producir efectos de toxicidad en las especies vegetales sensibles. Sin embargo, se ha postulado que diversos factores edáficos podrían determinar la biodisponibilidad del cobre y, por lo tanto, la intensidad de sus efectos fitotóxicos, tales como el contenido de materia orgánica y el pH del suelo, además del grado de solubilidad de la forma química en la cual el cobre es incorporado (Ginocchio y Narváez, 2002).

El cobre es un contaminante ambiental importante asociado principalmente a las actividades mineras de Chile. En sectores cercanos a dichas actividades, este altera las características naturales de los suelos y provoca efectos adversos sobre los organismos vivos (Gaete *et al.*, 2010).

#### **2.5. Efectos contaminantes del Cd.**

Las plantas expuestas a suelos contaminados con cadmio presentan modificaciones en la apertura estomática, fotosíntesis y transpiración. Uno de los síntomas más extendidos de la toxicidad por cadmio es la clorosis producida por una deficiencia en hierro, fosfatos o por la reducción del transporte de Mn. El tratamiento con cadmio produce reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática, alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática y desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la

síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO<sub>2</sub> (Rodríguez-Serrano *et al.*, 2008, Alkorta *et al.*, 2004).

Hay pruebas de que esa exposición al Cd puede contribuir al desarrollo de cáncer del pulmón aunque las observaciones en trabajadores expuestos han sido difíciles de interpretar a causa de la presencia de factores que inducen la confusión. Basándose en un modelo biológico, se ha estimado que con una diaria de 140 - 260 µg de cadmio durante toda la vida, o una ingesta acumulativa de unos 2000 mg o más, se produce en el ser humano una asociación entre la exposición al cadmio y una mayor excreción de proteínas de bajo peso molecular en la orina (Prieto-Méndez *et al.*, 2009).

Entre los casos de envenenamiento por cadmio mejor conocidos y documentados se encuentra el producido en Japón y denominado como enfermedad de *Itai-Itai*. A nivel molecular el cadmio es un conocido bloqueador del calcio en la membrana plasmática. En general, se sabe que desplaza al calcio y al cinc en determinadas proteínas además de causar estrés oxidativo. El resultado de todo ello suele ser un daño severo en el ADN y en los lípidos (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

El cadmio es un metal tóxico no esencial para las plantas, el cual demuestra un problema, puede inhibir el crecimiento de las raíces y brotes, afectando la absorción de nutrientes y la homeostasis, además de ser con frecuencia acumulado por los cultivos de importancia agrícola. Del mismo modo, la contaminación del suelo con cadmio puede afectar negativamente a la biodiversidad y la actividad de las comunidades microbianas del suelo (Yan-de Jing *et al.*, 2010).

## **2.6. Efectos contaminantes del As.**

Las plantas tienen mecanismos de homeostasis que relacionan o mantienen bajas las concentraciones de As en sus células. Estudios del arsenito (la forma dominante de arsénico fitobioable en la parte aeróbica de los suelos) han manifestado ser tóxico para ciertas especies de plantas que no resisten el estrés causado por la presencia y exposición exagerada al

arsénico, con síntomas en la inhibición y crecimiento de las raíces (Meharg y Hartley-Whitaker, 2002).

El arsénico puede entrar en los ambientes terrestres y acuáticos causando alteraciones en los procesos geológicos naturales (geogénicos) y en las actividades humanas (antropogénicas) (Ortiz-Escobar *et al.*, 2010).

Bajo condiciones de saturación de agua en el suelo y en los organismos vivos, incluyendo plantas, animales y humanos, las especies inorgánicas de arsénico como el arsenito ( $As^{3+}$ ) son más móviles, tóxicas y más predominantes que las formas orgánicas (Ortiz-Escobar *et al.*, 2010, Priya *et al.*, 2008).

Por ejemplo se ha visto en las especies de *Alyssum* y *Thlaspi goesingense* que el As como elemento no esencial ocasiona o promueve el crecimiento de estas plantas a ciertas concentraciones (Sharma y Dietz, 2006).

De este modo, mantener adecuadamente los niveles de arsénico en agua y en suelo es una muy importante tarea para el medio ambiente (Duquesnoy *et al.*, 2009).

## **2.7. Problemática de la contaminación por metales pesados.**

### **2.7.1. Problemática de la contaminación de Pb en México**

Los niños de *Anapra* en Ciudad Juárez presentaron envenenamiento por plomo el cual continuaba siendo un problema veinte años después dado que el plomo persistía en el polvo y en el suelo del lado mexicano de la frontera (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010).

Tal es el caso de algunas localidades en el estado de Zacatecas, donde ha sido necesaria la evaluación de la presencia de metales como mercurio y plomo para así determinar el nivel de riesgo para los ecosistemas y la salud humana (Yarto, 2010).

Debido a la riqueza natural de minerales azufrados de Pb y Ag en la zona, así como a su posterior explotación minera, en la comunidad de Huautla, Morelos, se han identificado grandes cantidades de residuos (colas de flotación) y de material no procesado rico en Pb soluble, la cantidad de residuos depositados en

esa zona se estiman en 780 mil toneladas, en las cuales el principal contaminante es el plomo (Velasco-Trejo *et al.*, 2004).

El área que se encuentra en San Francisco del Oro, Chih., presenta sitios con presas de jales, donde los desechos de la industria minera son confinados en un área, que abarcó 3 km lineales en dirección de los vientos dominantes a partir de la fuente de contaminación. En los primeros 5 sitios ubicados dentro de los 1 500 m de distancia a los jales, se presentaron valores de Pb por arriba de los 1000 mg Kg<sup>-1</sup> en la parte superficial (Puga *et al.*, 2006).

Para evaluar los contenidos de metales pesados, materia orgánica y nutrientes en la bahía de Chetumal, se determinaron las concentraciones de los metales pesados (Cd, Pb, Hg y As) en sedimentos superficiales. Los contenidos de Pb encontrados en los sedimentos son bastante elevados de acuerdo a la toxicidad de estos metales. La concentración de Pb oscila entre 0.00 a 5.63 mg Kg<sup>-1</sup> (González-Bucio, 2008).

### **2.7.2. Problemática de la contaminación de Cu en México**

En la región chinampera de Xochimilco y Tláhuac, en las inmediaciones de la Ciudad de México se presenta un deterioro ambiental severo. El contenido de Cu en los suelos se presentan concentraciones que fluctúan de 0.57 a 2.02 mg Kg<sup>-1</sup>. Los iones metálicos extraíbles tuvieron el siguiente orden: Pb>Cu>Cd (Ramos-Bello *et al.*, 2001).

A nivel mundial, México ocupa uno de los primeros lugares en la producción de ostión, siendo Tamaulipas uno de los principales estados productores, con importantes zonas para la pesquería de este bivalvo en el Golfo de México. El contenido de Cu en los tejidos de ostión no presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con el contenido de este metal en los sedimentos (Vázquez-Sauceda *et al.*, 2006).

### **2.7.3. Problemática de la contaminación de Cd en México**

Los estudios del problema de la contaminación por metales pesados en nuestro país, presenta el caso de la exposición de los niños al cadmio por culpa de una fundidora de San Luis Potosí (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010).

Se determinaron los contenidos de metales pesados, materia orgánica y nutrientes en la bahía de Chetumal mostrando las concentraciones de Cd que oscilan entre 0.00 a 1.00 mg Kg<sup>-1</sup> (González-Bucio, 2008).

A nivel mundial, México ocupa uno de los primeros lugares en la producción de ostión, siendo Tamaulipas uno de los principales estados productores, con importantes zonas para la pesquería de este bivalvo en el Golfo de México. El nivel significativamente superior ( $p < 0.05$ ) de Cd en el agua de la estación 5, aunado a los valores altos de los otros metales en esta estación, sugiere que el río Tigre puede ser la entrada de contaminación de estos metales hacia la laguna (Vázquez-Sauceda *et al.*, 2006).

#### **2.7.4. Problemática de la contaminación de As en México.**

La exposición de los niños al arsénico es un problema de contaminación debido a una fundidora en San Luis Potosí (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010).

La evaluación de la contaminación por arsénico en agua y sedimento del sistema de “pozos-canales” de Cerrito Blanco del área de Villa de la Paz – Matehuala, San Luis Potosí, revelo que contienen 7 mg Kg<sup>-1</sup> de arsénico por lo que debe ser considerada de alto riesgo para la salud (Díaz-Barriga *et al.*, 2010)

En San Francisco del Oro, Chih, existe un área que cuenta con una presa de Jales la cual confina en un área los desechos de la industria minera, que abarcó 3 km lineales en dirección de vientos dominantes a partir de la fuente de contaminación. El As en los sitios que se ubican a 300 m y 600 m de la presa de jales muestran altas concentraciones en las profundidades de 40-60 y 60-80 cm con 3 670 y 5 410 mg Kg<sup>-1</sup> para el sitio uno y de 3 150 y 2 930 mg Kg<sup>-1</sup> para el sitio dos (Puga *et al.*, 2006).

Los contenidos de arsénico, materia orgánica y nutrientes en la bahía de Chetumal se encontraron en los sedimentos presentándose concentraciones bastante elevadas que oscilan entre 0.08 a 0.63 mg Kg<sup>-1</sup> (González-Bucio, 2008).

## **2.8. Problemática de metales pesados en la Comarca Lagunera.**

### **2.8.1. Problemática de la contaminación de Pb en la Comarca Lagunera**

En la ciudad de Torreón, Coahuila, se han presentado casos de contaminación por metales, donde se detectaron altos niveles de plomo en sangre humana en la zona circundante a un complejo metalúrgico (Yarto, 2010).

En un estudio de la ciudad de Torreón se descubrió que en muestras de polvo en las cercanías de la empresa siderúrgica Met-Mex Peñoles, había niveles de plomo que iban desde 787 hasta 13,231  $\mu\text{g g}$  (mediana 2,448  $\mu\text{g g}$ ), cuando el nivel máximo en los Estados Unidos para considerar que un sitio contaminado ya no lo está según el Súper fondo de limpieza global es de 500  $\mu\text{g g}$ . Cuatro personas, vecinos de la colonia Luis Echeverría presentaron valores muy elevados (45-69  $\mu\text{g dL}$ ). (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010).

### **2.8.2. Problemática de la contaminación de Cd en la Comarca Lagunera.**

Se encontró en el polvo de los alrededores de Peñoles niveles de cadmio entre 11 y 1,497  $\mu\text{g g}$  (mediana 112  $\mu\text{g g}$ ), cuando el nivel máximo en los Estados Unidos para considerar que un sitio contaminado ya no lo está es de 20  $\mu\text{g g}$  (20  $\text{mg Kg}^{-1}$ ). Sin embargo, en Torreón se encuentran los niveles más altos de cadmio, jamás encontrados en la literatura científica (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010)

### **2.8.3. Problemática de la contaminación de As en la Comarca Lagunera**

En el polvo del área cercana a la empresa Met-Mex Peñoles, el arsénico se encontró en concentraciones de 50 y 788  $\mu\text{g g}$  (mediana 113  $\mu\text{g g}$ ). Para el arsénico, el nivel máximo en los Estados Unidos para considerar que un sitio contaminado ya no lo está es de 65  $\mu\text{g g}$  (Valdés-Perezgasga y Cabrera-Morelos, 2010).

En mayo de 2009, el Encuentro Ciudadano Lagunero En Defensa del Agua dio a conocer que cierto número de norias rebasaron los niveles permisibles de arsénico los cuales pasaron de 15  $\text{mg Kg}^{-1}$  en 2007 a 21  $\text{mg Kg}^{-1}$  en 2008. En México los niveles máximos permisibles de arsénico en el agua son de 0.025  $\text{mg L}$ , a diferencia de los parámetros internacionales que en países como Estados

Unidos, establecen un máximo de 0.010 mg L. Los últimos resultados entregados por el Sistema Municipal de Aguas y Saneamiento (SIMAS), revelan que el arsénico en el agua aumentó en un promedio del 18 % de acuerdo a las mediciones realizadas en los pozos de junio a noviembre de 2008 (Barrientos, 2010).

El agua subterránea en la Laguna está contaminada con arsénico en cantidades superiores a 10 microgramos por litro. La OMS establece como concentración perjudicial para el cuerpo humano una ingesta mayor a 10 microgramos por litro de arsénico en el agua de consumo. La presencia del arsénico en el agua subterránea de La Laguna no es un problema tecnológico, la tecnología existe y se ha aplicado con éxito en diferentes países. Tampoco es un problema económico dado que el costo del m<sup>3</sup> de agua obtenida es menor a 1 peso (Ramírez-Vargas, 2010).

## **2.9. Adaptación de plantas a ambientes contaminados por metales pesados.**

### **2.9.1. Mecanismos de tolerancia a metales pesados.**

Considerando el criterio de tolerancia múltiple presente en las plantas se dividen los posibles mecanismos en las siguientes formas: (1) mecanismos externos de tolerancia: hongos micorrizogenos; y (2) mecanismos internos de tolerancia: (a) enlace a la pared celular y exudados radicales, (b) quelacion de los metales por diversos ligandos en el sitosol (fitoquelatinas, metalotioneinas y aminoácidos), (c) presencia de proteínas de estrés térmico, y (d) acumulación en la vacuola (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

#### **2.9.1.2. Mecanismos externos de tolerancia.**

En segundo lugar, los microorganismos del suelo han demostrado que exudan los compuestos orgánicos que estimulan la biodisponibilidad y facilitan la absorción de una variedad de los iones metálicos en las raíces, incluidas los iones de Mn<sup>+2</sup> y, posiblemente, Cd<sup>+2</sup>. El transporte intracelular de proteínas de alta afinidad a sitios de unión y mediante la absorción de metales a través de la membrana plasmática incluyen la ATPasas-metal pesado (tipo O- CPX) que participan en la homeostasis general de los iones metálicos y en la tolerancia de

las plantas, asociada a macrófagos naturales que cuentan con proteínas resistentes como la familia de las proteínas (Nramp), y que facilitan la difusión de cationes (FCD), también la familia de las proteínas de la permeasa de zinc-hierro (ZIP), etc. (Xiaoe-Yang *et al.*, 2005).

En los componentes de la pared celular se analizó por espectroscopia de rayos X el proceso de acumulación de Pb en raíz de *Medicago sativa* y *Juglans regia*, registrando la formación de enlaces del metal con complejos de lignina y celulosa, respectivamente. Los autores atribuyen este efecto al incremento de la actividad de la peroxidasa que estimula la biosíntesis de la lignina en respuesta al estrés causado por estos metales (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

### **2.9.2. Fitoquelatinas.**

Las fitoquelatinas son grupos de cisteína no proteínica que enlazan al metal con péptidos producidos por las plantas. Se ha comprobado que muchas de estas actúan con un comportamiento similar al del procesamiento de metalotioneinas en las plantas tolerantes a metales. Se sabe que las fitoquelatinas juegan un rol constitutivo en la tolerancia de metales en las plantas. Casi siempre, la evidencia no es conclusiva y presenta una fácil respuesta ante el estrés (ejemplo, producción de fitoquelatinas al exponerlas a metales) (Reichman, 2010).

Las fitoquelatinas son el ejemplo conocido de metabolitos que inducen la acumulación de metal y están implicadas en la desintoxicación celular de metales. Estos grupos de thiol son péptidos de bajo peso molecular sintetizados por las plantas en respuesta a la exposición de metales pesados; de la síntesis del glutatión se cataliza formando fitoquelatina sintetiza. Los complejos de fitoquelatinas-metal son casi siempre secuestrados en las vacuolas. Casi siempre, las fitoquelatinas son importantes para la desintoxicación de algunos grupos limitados de metales como lo son  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{AsO}^{-2}$  así mismo  $\text{Zn}^{+2}$  y  $\text{Ni}^{+2}$  que causan la presencia de fitoquelatinas y exhiben baja afinidad de ligación. En cambio, no todas las plantas responden al Cd con la síntesis de fitoquelatinas, estos resultados sorprenden, ya que las fitoquelatinas no son una central exclusiva para la tolerancia específica de los metales (Sharma y Dietz, 2006).

La forma en que los tejidos de las plantas toman el arsenito en un cierto rango es por complejación con fitoquelatinas. Donde las fitoquelatinas lo pueden extraer bajo un pH > 7.2, los complejos de fitoquelatinas son muy disociados ante la presencia de arsenato libre (con las fitoquelatinas, se reduce y oxida el arsenito a arsenato), más sin embargo cuando el arsenato es detectado en extractos de planta, se presenta mayormente en su forma original como complejo de fitoquelatina-arsenito. Las plantas presentan una variada sensibilidad o resistencia al arsénico. La resistencia es generalmente activada vía supresión de la alta afinidad al sistema de absorción de fosfato/arsenato (Meharg y Hartley-Whitaker, 2002).

Las fitoquelatinas son rápidamente inducidas in vivo por la presencia de ciertos iones de metales pesados, sintetizando a las fitoquelatinas a partir del glutatión, a una enzima g-Glu-Cys dipeptidil transpeptidasa. El otro nombre común de esta enzima es la fitoquelatina sintetasa. Al estar ausente la fitoquelatina sintetasa o en cantidad menor es hipersensible al Cd y Hg. Casi siempre, estos cambios tienen esencialmente a presentarse en las puntas de hojas tolerantes al Cu y Zn. El complejo metal-fitoquelatinas activa subsecuentemente la transportación desde el citosol a la vacuola (Memon *et al.*, 2001).

Las FQS secuestran a los metales (esenciales y no esenciales) y los distribuyen preferentemente a la vacuola de los distintos tejidos. Por otra parte las FQS no solo desempeñan un papel importante en la desintoxicación de metales, sino que además participan en la mitigación del estrés oxidativo. Por ejemplo, al experimentar con extractos celulares de *Phaeodactylum tricornutum* y *Allium sativum*, respectivamente, se observó que la exposición a Cu estimuló la presencia de FQS libres de metales. Por esta razón, se supone que las FQS pueden estar en forma oxidada y por lo tanto participar en la disminución de especies reactivas de oxígeno (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

Estos péptidos actúan como agentes quelatantes, formando complejos con metales pesados en las plantas. Con la unión del Cd a la fitoquelatina el complejo es secuestrado y llevado a las vacuolas, donde se forma un complejo molecular pesado con sulfuro (Cd-FQ-S) que ha sido considerado como la forma más

estable para almacenar el metal. Propusieron el uso de las fitoquelatinas como un marcador fisiológico de contaminación por metales pesados, en especial del Cd, ya que encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de fitoquelatinas y las del metal en plantas (Pernia *et al.*, 2008).

Los recientes descubrimientos sobre los genes de fitoquelatina sintetasa presentes en *Arabidopsis*, *Shizosaccharomyces pombe*, y en otras plantas que generan fitoquelatinas, han resultado ser péptidos sintetizados enzimáticamente conocidos por realizar la ligación del Cd y otros metales pesados en plantas (Lou-Guerinot y Salt, 2001).

Solo la presencia de algunos tipos de fitoquelatinas en la participación de la formación de complejos de plomo se encargan de los procesos de desintoxicación en los tejidos de *Vetiveria zizanoides*. Ante la aplicación de plomo, los compartimentos de la raíz y el tallo no produjeron fitoquelatinas. Pero los tipos de fitoquelatinas (n= 1 a 4) fueron identificadas en las raíces expuestas a 1200 mg L de plomo, mientras que solamente tres tipos (n= 1ª 3) de fitoquelatina se encontraron en los tejidos de los tallos. (Andra *et al.*, 2008).

La deficiencia de fitoquelatinas se correlaciona con la hipersensibilidad de la planta al Cd, Cu y As. La forma más importante de los complejos de fitoquelatinas-metales en la subsecuente transportación de estos al interior de la vacuola, es con la fusión de un transportador tipo ABC, que corresponde a el Hmt 1 (Clemens *et al.*, 2002).

La secreción de ácidos orgánicos puede movilizar grandes cantidades de metales y mejoran la absorción de estos en las raíces. El complejo Cd-orgánicos extrae el 40 % del Cd total en el suelo y se relaciona positivamente con fitodisponibilidad del Cd. Muchas moléculas orgánicas de bajo peso molecular son ácidas y pueden influir en la liberación del Cd absorbido del suelo y aumentar la solubilidad del Cd a través de la formación de complejos de Cd- LMWOA (Xiaoe-Yang *et al.*, 2005).

En algunas plantas y en las especies *S. pombe* y *Candida glabrata*, los iones de sulfito juegan un importante rol en la eficacia de la desintoxicación del Cd

por las fitoquelatinas. La incorporación del sulfito dentro de los complejos HMW incrementa la cantidad de Cd por molécula debido a la estabilidad de los complejos. Por lo que los sulfitos están involucrados en la desintoxicación de otros iones metálicos por el trabajo de las fitoquelatinas (Cobbett y Goldsbrough, 2002).

Los metales pueden ser tomados por los grupos thioles, péptidos de glutatión y fitoquelatinas o por grupos de cysteina en las metalotioneinas. La quelación de los metales en las raíces es más conducida hacia la vacuola o exportada a los tallos vía xilema (Pilon-Smits, 2005).

Casi siempre, se han identificado complejos de fitoquelatinas en vivo solamente con iones de Cd, Ag y Cu. En contraste, casi siempre, se ha demostrado la formación de complejos de fitoquelatina-As en vivo y dentro de la planta. Sin embargo, las fitoquelatinas juegan un rol en la eliminación de Cd y en la desintoxicación del arsenito. Es posible, casi siempre, que se formen complejos de fitoquelatinas-Cu que son relativamente fáciles de secuestrar en la vacuola, estos son comparativamente transitorios, como una alternativa, más efectiva, para el mecanismo de desintoxicación de Cu. Solamente los altos niveles de exposición al Cd (no generalmente se presenta en el medio ambiente natural) logran hacer que las fitoquelatinas juegan su rol. También se sugiere que las fitoquelatinas tienen un muy importante rol en la desintoxicación de metales pesados de un medio ambiente poco contaminado (Cobbett y Goldsbrough, 2002).

### **2.9.3. Genes que codifican metales.**

Las metalotioneinas son proteínas de bajo peso molecular (4-8 kDa), generadas transcripcionalmente y con capacidad de ligar iones metálicos (tan solo el 30 % del total de la proteína está formado por residuos de cisteína,) para evitar así una intoxicación por metales. La clase MT1 incluye únicamente a las MTs de mamíferos, mientras que la clase MT2 incluye a las MTs de hongos, invertebrados y plantas. Las MTs de clase II presentes en las plantas se agrupan en cuatro tipos (Mt1, Mt2, Mt3, Mt4) de acuerdo con el ordenamiento de los residuos de cisteína en la proteína, y fueron identificadas por primera vez en embriones maduros de trigo como una proteína “quelante” del Zn. (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

Se describió en un estudio complementario la identificación de una proteína que esta conferida a la tolerancia de Cd en el pasado la TcHMA4, que se conocía pertenecía a otra familia de genes, la familia metalotioneinas, que pueden aportar o conferir tolerancia al Cd. La metalotioneinas son grupos de cisteína, que presentan poco peso molecular, estas pueden formar ligandos de proteínas-metal en forma de ataduras de mercaptidos con varios metales y están implicadas en la homeostasis primaria de metales en mamíferos (Milner y Kochian, 2008).

Se ha demostrado que su función está en la regulación de metales esenciales y en la desintoxicación de algunos metales. Al provocar las expresiones de los genes de metalotioneinas en *V. faba* por la exposición al Cu, Zn o Cd, no se presentaron incrementos por arriba de lo normal de estos genes. Diferentes genes se expresan en diferentes órganos de plantas, al inducir con Cu a estos genes su expresión indico mayormente un apareamiento del Cu en las raices y al inducir la expresión de los genes con el Zn, este se apareo en los órganos de las hojas. Muchos estudios no identifican una relación entre la exposición al metal y la generación de metalotioneinas, que consideren se afecte el crecimiento de los órganos de la plantas (Reichman, 2010).

La función de las metalotioneinas en las plantas es claramente promovida por las fitoquelatinas (Cobbett y Goldsbrough, 2002).

### **2.9.3.1. Histidina (Hi)**

La histidina (Hi) es un aminoácido libre que desempeña una función importante en la tolerancia de metales en plantas hiperacumuladoras, ya que pueden secuestrar al metal mediante enlaces con sus grupos carboxilato, amino e imadazol. La formación de complejos Hi-metal ha sido observada en raíces de plantas hiperacumuladoras como *Alyssum lesbiacum* expuestas principalmente a Ni; en este caso, la Hi puede actuar quelando al metal, facilitando así el transporte del metal de la raíz al tallo vía xilema y su posterior acumulación en la vacuola por los ácidos orgánicos. Resultados similares han sido indicados en las raíces de *Thlaspi goesingense* (planta hiperacumuladora de Ni), las cuales, muestran concentraciones de Hi hasta 17 veces mayores a las de *T. arvense* (planta no-hiperacumuladora) (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

El significado de la co-ordenación de Ni con histidina fue descrito por la absorción de barrido con rayos X en donde se analizó la fina estructura de la fuerza del xilema de *A. lesbiacum*. Sin embargo, la forma de hiperacumulación de Ni ante la translocación de Ni de la raíz al tallo depende de la histidina. Se han demostrado niveles de histidina que están correlacionados con la tolerancia al Ni y otros metales en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Sharma y Dietz, 2006).

El transporte e hiperacumulación del Ni es mejor por el aminoácido histidina en *Allysum*, es necesario seguir los estudios de las características bioquímicas de los exudados de las raíces y la exudación de bases moleculares de la raíz al aumentar la movilidad de los metales pesados en la rizosfera. Además, se ha demostrado significativamente que para mejorar la acumulación de Zn ciertos microorganismos del suelo requieren que se les facilite la solubilidad del Zn no-viable del suelo para aumentar la biodisponibilidad de este elemento en la hiperacumuladora *T. caerulescens* (Xiaoe-Yang *et al.*, 2005).

En la hiperacumulación de Ni, por *Ayssum lesbiacum*, los aminoácidos de Histidina libres promueven la traslocación de Ni de los tejidos de la raíz a los tejidos de los tallos, presumiblemente para formar un complejo de Ni-His moviéndose por el xilema (Lou-Guerinot y Salt, 2001).

### **2.9.3.2. Prolina**

El aminoácido proteinogenico prolina funciona como un osmolito, recolector de radicales, supresor de electrones, estabilizador de macromoléculas y un importante componente celular. Por encima de lo habitual la prolina es frecuentemente encontrarla en plantas, algas y hasta angiosperma, también bajo condiciones de estrés por metales pesados. La quelacion de iones de metales por la prolina está indicada. Se ha demostrado que la prolina protege e impide la inhibición de la glucosa-6-fosfato dihidrogenasa y al nitrato reductasa al inducir dentro de un organismo estrés con Zn y Cd. En *Scenedesmus*, el contenido de prolina se incrementa en respuesta al Cu y Zn. En el caso del Cu, los contenidos de prolina pueden llegar a 10 micro moles e inclusive incrementarse hasta 100 micro moles. La prolina es de muy particular importancia en la ligación de iones de

metales pero estas no forman complejos con las fitoquelatinas (Sharma y Dietz, 2006).

La prolina es un aminoácido que en su forma libre participa en la desintoxicación de metales en la planta. Por ejemplo se observó que la prolina libre puede actuar como antioxidante en las células de *Chlamydomonas reinhardtii* (microalga) tratadas con Cd, evitando que las especies reactivas de oxígeno reaccionaran con el glutatión, esto permite mantener estables los niveles de glutatión en el citoplasma, facilitando la síntesis de fitoquelatinas, las cuales incrementan la tolerancia de este organismo al metal Cd (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

#### **2.9.4. Almacenamiento de metales en vacuola.**

Está bien demostrado que los pastizales pueden activar una capsula de Zn dentro de las vacuolas con la mayor tolerancia para estas especies o continuar el proceso para excretar alto contenido de Zn en las hojas de las especies sensibles al Zn. La evidencia de las vacuolas de plantas como un sitio de secuestro de metales apenas están concluyendo aportando preguntas sobre como dependen de estos mecanismos las plantas dicotiledóneas para secuestrar otros metales como el Zn y Cd. La vacuola es el último sitio de parada para estos iones de metales pesados que están intentando entrar al citosol de la célula de la planta que reaccionar con estos (Reichman, 2010).

Existe una correlación entre la tolerancia y una mayor vacuolización de las células del meristemo de la raíz en plantas de *Festuca rubra* al ser expuestas a Zn. Posteriormente en estudios de absorción de metales usando  $Zn_{65}$  en el tejido foliar de plantas de *Hordeum vulgare*, el almacenamiento rápido del Zn en la vacuola es un mecanismo importante para evitar el daño en el tejido por concentraciones altas del metal. También se ha demostrado que el tonoplasto es un factor clave en la tolerancia a metales, al exponer al Zn, los tonoplastos aislados de plantas tolerantes y no tolerantes al metal observaron que el transporte a través del tonoplasto por proteínas de la membrana a la vacuola fue 2.5 veces mayor en las plantas tolerantes, confirmando la importancia de la

vacuola en la tolerancia a metales pesados en las plantas (González-Mendoza y Zapata-Pérez, 2008).

Para la mayoría de las plantas, los complejos de fitoquelatinas-Cd son secuestrados en la vacuola. En *S. pombe*, estos procesos han sido bien demostrados en estudios posteriores del cambio de Hmt 1 sensible al Cd. El gen Hmt 1 pertenece a la familia de los ligandos ATP del grupo (ABC) que son las proteínas transportadoras del Cd localizadas en la membrana de la vacuola (Cobbett y Goldsbrough, 2002, Lou-Guerinot y Salt, 2001).

Mayormente, la compartimentación de radicales metálicos en la vacuola ha sido demostrada como un componente más en las estrategias de la desintoxicación celular del metal. Casi siempre, los datos viables, coinciden con las cadenas que contienen a los metabolitos que son funcionales en ciertos contextos ante la tolerancia al estrés de los metales. Es así que el arsénico induce la formación de vacuolas con una acumulación de especies de thiol (Sharma y Dietz, 2006).

## **2.10. Fitorremediación.**

La estrategia de fitorremediación puede ofrecer enfoques adecuados para la descontaminación de suelos, el agua, y el aire contaminado por metales traza, así como las sustancias orgánicas. La hiperacumulación de metales pesados por las plantas superiores es un fenómeno complejo. Se trata de varios pasos, tales como: (a) el transporte de metales a través de la membrana plasmática de células de la raíz, (b) la carga del xilema y el traslado, y (c) la desintoxicación y el secuestro de los metales en toda la planta y los niveles celulares. La mayoría de los metales pesados tienen una baja movilidad en el suelo, y no son fácilmente absorbidos por las raíces de las plantas (Xiaoe-Yang *et al.*, 2005).

La fitorremediación es el uso de plantas que comienza con la remediación substancial seleccionando contaminantes en suelos, lodos residuales, sedimentos, agua de proceso, aguas de agricultura y agua residual contaminadas. Se utilizan una variedad de procesos biológicos de plantas y las características físicas de las plantas que se colocaran en el sitio de remediación. La fitorremediación ha sido utilizada como una remediación verde, remediación-botánica, agro remediación y

remediación vegetativa. La fitoremediación es un proceso de continuidad, que con los diferentes procesos ocurren diferentes degradaciones para diferentes condiciones, medios contaminantes y plantas. La fitoremediación requiere unos procesos complejos estos deben presentar su ocurrencia, con las plantas seleccionadas que bajo estos procesos suceda la manifestación del crecimiento de la planta en el lugar contaminado. La fitorremediación se prefiere utilizarla como una alternativa responsablemente ecológica a comparación de métodos de remediación física recurrentemente practicados que destruyen el medioambiente (Pivetz. 2001, Alkorta *et al.*, 2004).

La revegetación sucesiva de sitios iguales pueden ser llevadas a cabo por la implementación de estas prácticas modificando el enraizado de la planta reduciendo la compactación del medio, mejorando la capacidad de retención de agua y drenaje, e incremento de nutrientes (especialmente N y P) sosteniendo y/o para usarlas en especies de plantas que son tolerantes a las condiciones de estrés presentes en algunos suelos (Evanylo. *et al.*, 2008).

La curva de dosis respuesta generaliza dos aspectos de los diferentes metales que participan en el crecimiento de la planta. Los iones de metal pueden volverse tóxicos al exceder las concentraciones con lo que el metal causa desordenes específicos para algunas variedades y especies de plantas y eco tipos, esto se relaciona con las propiedades de los metales. Pero en ciertos casos, las plantas que tienen una habilidad de acumular Zn, Ni y Cd en exceso de 1, 0.1 y 0.01 % en su materia seca, respectivamente son consideradas como hiper acumuladoras de estos metales. Las hiperacumuladoras de metales cuentan con un alto potencial para poder ser usadas en la limpieza de suelos contaminados con metales tóxicos (Sharma y Dietz, 2006).

La fitoremediación es el uso de plantas y asociación de microbios para limpiar el medio ambiente. Esta tecnología toma el uso de los procesos que ocurren en la naturaleza para con las plantas y la flora de microorganismos de la rizosfera degraden y secuestren contaminantes orgánicos e inorgánicos. La fitoremediación es una tecnología eficiente para limpiar una variedad de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Los contaminantes inorgánicos pueden

ser fitorremediados incluyéndole a la planta macronutrientes como lo son nitratos y fosfatos, las plantas absorben los elementos traza como Cr, Cu, F, Hg, Se, Pb, V y W. La fitorremediación ha ganado popularidad con agencias gubernamentales e industrias en los pasados 10 años (Pilon-Smits, 2005).

Se tiene a demostrar que es uno de los mejores métodos sucesivos in situ para la inmovilización de metales pesados, siendo efectivo reduciendo el peligro para la flora, fauna y población humana (Nwachukwu y Pulford, 2009).

La ciencia de la fitoextracción en un término tecnológico extenso, es imperativo tener mínima resistencia a emplear la fitoremediación en actividades económicas viables y socialmente aceptables para la descontaminación. Las plantas industriales, empresas de energía o empresas para la producción de biodiesel, son mayormente las primeras candidatas con plantas de fitoextracción (Kos. *et al.*, 2003).

Casi siempre, aplicar micorrizas pueden impactar en las plantas causando tolerancia al plomo, lo cual sigue siendo menos conocido (Chen. *et al.*, 2005).

Una de las estrategias de fitoremediación de metales contaminantes del suelo es la fitoextracción, ejemplo realizando absorción y remoción del sitio. Otra aplicación de fitoremediación es la fitoestabilización donde las plantas son usadas para minimizar la movilidad del metal contaminante en los suelos. Los metales pueden causar severa fitotoxicidad, y muchos de estos metales causan poderosas fuerzas para la evolución de tolerancia en las poblaciones de plantas. Por lo tanto, es posible identificar especies de plantas tolerantes a metales en la vegetación natural de sitios del campo que están contaminados con varios metales pesados (Yoon *et al.*, 2006).

El deterioro del balance planta-agua es una de las consecuencias de la exposición a metales pesados (Sharma y Dietz, 2006).

Así lejanamente, el Mn no tiene toxicidad beneficiando adecuadamente las investigaciones en comparación con Cd, Cu, Hg, Pb y Zn. Bajo condiciones naturales, los minerales de Mn están generalmente acompañados con Pb, Cd, Zn,

Ni, Co y Fe, y la extracción de Mn acarrea inevitablemente plomo o liberar más de los metales tóxicos en el medio ambiente (Li y Yang, 2008).

La viabilidad del Zn, la cual es requerida en cantidades similares a la del Fe, son obstáculos que restringen la viabilidad de algunos de los metales que son susceptibles de ser fitorremediados, para el plomo particularmente, es limitada. Posiblemete, los mecanismos asignados en la adquisición de fosfatos contribuya a incrementar la viabilidad de ciertos micronutrientes. Pero la acidificación de la rizosfera y la exudación de carboxilatos son consideradas herramientas potenciales para promover la acumulación de metales. Los metales son capturados por las células de la raíz, posterior a su movilización (Clemens *et al.*, 2002, Prieto-Méndez *et al.*, 2009).

La fitorremediación y biosorción son dos técnicas de tratamiento que están siendo muy usadas para mitigar o resolver estos problemas (Sampanpanish *et al.*, 2007).

El manejo sucesivo de este 'corredor verde' suele depender en la inmovilización de elementos traza inmóviles presentes en los suelos afectados. (Madejon *et al.*, 2002).

### **2.10.1. Fitorremediación con alfalfa.**

Las leguminosas (habichuelas y alfalfa) acumulan altas cantidades de metales en sus tallos y raíces, con una marcada diferencia en cada una de las especies empleadas en la extracción y limpieza de suelos. Por otro lado, la ciencia de la fitoextracción de contaminantes depende de la producción de biomasa en los tallos, esto es necesario para seleccionar los cuerpos de plantas adecuados para que persistan en el suelo e incrementen su producción y contribuya en la maximización de la efectividad de la fitorremediación (Hajiboland, 2005).

No obstante los niveles de Cd parecen generalmente bajos en los forrajes de *Wisconsin*, las granjas tienen 2 componentes de forraje (maíz y alfalfa), estos exceden un poco los límites permisibles de  $0.5 \text{ mg Kg}^{-1}$  en la comida ganadera de Estados Unidos de América, pero no el límite de la unión

Europea de  $1 \text{ mg Kg}^{-1}$ . El rendimiento moderado y la concentración de cadmio en tallos de alfalfa están por encima de  $0.64 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Sin embargo esta concentración no causa niveles de fitotoxicidad en la alfalfa (Li *et al.*, 2005).

La absorción de Cd metálico por *M. sativa* a varias concentraciones realizada en condiciones in Vitro bajo hidroponía por un periodo de 21 días, se realizó conforme a la tasa de crecimiento para realizar los cortes del material vegetal. El incremento significativo de niveles del metal en raíces y tallos tiene relación con el incremento en las concentraciones de metales, la cantidad de cadmio se presenta más en las raíces que en hojas de la planta alfalfa (Singh *et al.*, 2009).

Las dosis mínimas en cadmio, níquel, plomo, cobre y zinc promovieron el crecimiento de las raíces de las plantas comparado con el crecimiento de las raíces de las plantas control. El cadmio, níquel, cobre y plomo a concentraciones elevadas demostraron dependencia en la inhibición del crecimiento de las raíces. Por otro lado, la dosis mínima de Cu, Pb, Ni y Zn incrementaron la longitud de los tallos que fue comparada con el tratamiento control. A niveles intermedios el Cd, Ni y Pb redujeron el crecimiento de los tallos, pero casi siempre, con el aumento de la dosis del Cu se incrementa el tamaño de los tallos. Al estar muy concentradas las dosis de estos elementos tóxicos, se inhibió el crecimiento de los tallos que fue comparado con las plantas control (Chhotu *et al.*, 2008).

Los síntomas visuales de toxicidad (lesiones necróticas) se observaron en *Zea mays cv. Raissa*, *Zea mays cv. Matilda*, *Arundo Donax*, *Brassica napus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* y *Medicago sativa*. El potencial de fitoextracción disminuye con forma diferente metal se observa, el orden es respectivamente para *Medicago sativa*  $0.43 \text{ Pb} > 0.37 \text{ Zn} > 0.015 \text{ Cd mg Kg}^{-1}$ . La cantidad total de metales pesados en el suelo (por el espectroscopio de absorción atómica) después de la digestión, presentaron concentraciones de  $1100 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Pb,  $800 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Zn y  $5.5 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cd. Casi siempre, se relaciona la baja concentración de Cd en el suelo. El cadmio es altamente intercambiable bajo diferentes fracciones del suelo: los carbonatos que tienen Cd son susceptibles a diferentes rangos de pH, particularmente en la rizosfera

durante el crecimiento de la planta, y la adsorción constante del cadmio con complejos de materia orgánica es baja. Por lo tanto al Cd se le observa su límite solamente en las partículas del suelo, excepto para el Cd asociado con la fracción residual, donde puede ser fácilmente tomado por las plantas (Kos *et al.*, 2003).

Se usó *Medicago sativa* en minas que usan aguas residuales que contienen Zn y Pb (por encima de 236 y 456 mg Kg<sup>-1</sup> en DTPA extraíble de Zn y Pb, respectivamente) para demostrar la presencia de una infección potencial de micorrizas, no obstante fueron bajos los números de esporas fúngicas arbusculares adyacentes al suelo que no fue alterado por la actividad minera (Selvaraj y Chellappan, 2006).

A consecuencia del riego con aguas residuales se ha reportado la acumulación de metales en suelos, donde crecen plantas como maíz, trigo y alfalfa, que han llegado a acumular metales pesados como cadmio, níquel y plomo, principalmente en su tejido foliar de la alfalfa e incluso en granos de trigo (Méndez *et al.*, 2009).

#### **2.10.2. Fitorremediación con zacate ballico.**

La concentración de Pb en raíces y tallos de las especies *T repens* y *L perenne* son pobres en comparación con la alta cantidad de micorrizas. La inoculación de *micorrizas* afecta significativamente la absorción de Pb en las plantas. La concentración de Pb en ambos tallos y raíces de las cinco especies de plantas fue significativamente alta en los puntos con *micorrizas* inoculadas en comparación con las plantas sin inoculación de *micorrizas* para ambas concentraciones de Pb respectivamente 300 y 600 mg Kg<sup>-1</sup> (Chen *et al.*, 2005).

El potencial tóxico de las concentraciones de Zn, Cu, Cd, Pb se presentó en los tejidos aéreos de *Lolium perene* determinado para el primer y último corte de cada tratamiento con zacate ballico. Las concentraciones de cadmio y plomo fueron detectadas bajo los límites en las partes aéreas de *Lolium perene* (Torri y Lavado, 2009).

La absorción de metales por zacate ballico en un suelo con composta presento una reducción signficante en la absorción de Pb dentro de las hojas a comparación del testigo. La concentración de Pb en las hojas del zacate ballico

que crecía en el suelo no enmendado fue de 55 mg Kg<sup>-1</sup>, pero esta fue reducida a 40 mg Kg<sup>-1</sup> cuando se le aplicó una ración de 1 % de composta, 25 mg Kg<sup>-1</sup> con 10 % de composta, y cerca de 20 mg Kg<sup>-1</sup> cuando se adiciona 20 % de composta (Nwachukwu y Pulford, 2009).

Los valores de As, Cd, Cu, Pb y Zn en la materia seca observados para zacate ballico en condiciones experimentales (en mg Kg<sup>-1</sup>) resultaron relativamente bajas, excepto para Zn (32.7±0.2) y en suelos con concentraciones relativamente bajas aun para Pb (máxima de 334 mg Kg<sup>-1</sup>) (Madejon *et al.*, 2001).

Las concentraciones de Pb en las raíces de zacate ballico en suelos sin composta tienen una concentración asegurada de 2748 mg Kg<sup>-1</sup>, pero esta fue reducida en una cantidad asegurada de 2481 mg Kg<sup>-1</sup> con la aplicación de 1 % de composta en solución verde. Con 20 % de composta aplicada se observó una reducción significativa del Pb en las raíces (Nwachukwu y Pulford, 2009).

En *R. sativus*, *L. sariva* y *Lolium perenne* (ryegrass perene) la actividad de los iones libres fue medida con una mejor absorción del Cu en las plantas a comparación con el Cu total extraído con CaCl<sub>2</sub>, que se encuentra en un suelo urbano con alta contaminación. Por ejemplo, 60 % del Cu en las raíces de *Lolium multiflorum* (ryegrass Italiano) y *T. pratense* fue ligado por la pared celular y la membrana plasmática (Reichman, 2010).

### **2.10.3. Fitorremediación con pasto navajita.**

Las plantas que recibieron el tratamiento con Cd, exhibieron promedios más altos para el número de hojas muertas, número de vástagos muertos, y número de vástagos vivos. En general, *B. gracilis* también tuvo más vástagos vivos en la solución de cadmio en comparación al tratamiento testigo. El peso fresco y seco de las hojas fue mayor para plantas que recibieron cadmio comparadas al testigo. La tasa de elongación de la hoja fue mayor en plantas de *B. gracilis* que recibieron cadmio comparado con las plantas testigo (Martínez-Salazar, 2005).

El impacto de los elementos tóxicos como Pb, Ni y Cd al ser aplicados en un sustrato se presenta con un beneficio del crecimiento de las plantas. La aplicación de biosólidos con baja polución de Cd y Cu en un sustrato, no presentan niveles fitotóxicos en los tejidos de zacate navajita en comparación con el control (pastos semiáridos) (González-Mata *et al.*, 2002).

El incremento de Zn en zacate navajita se produjo por la aplicación de 0.90 mg Kg<sup>-1</sup> de Zn y ZnCl<sub>2</sub>, la aplicación de estos compuestos no causó la deficiencia de Zn, pero el crecimiento de la planta decrecía y la mitad de las plantas de zacate navajita contenían en su matriz de 2 mg Kg<sup>-1</sup> a 7.4 mg Kg<sup>-1</sup> de Zn. El zinc metálico (en polvo, de N° de tamiz de 30 y 40) no fue tóxico en cantidades menores a 0.40 mg Kg<sup>-1</sup>, pero el complejo zinc-quelante y ZnCl<sub>2</sub> fueron tóxicos en cantidades de 0.40 mg Kg<sup>-1</sup> inicialmente (White, 1991).

El abrevadero de la procesadora de Pb y Zn de *tailings* fue estudiado después de 50 años de haber sido abandonado para determinar las relaciones entre el proceso de depositación, las propiedades físicas y químicas de la superficie del suelo, crecimiento de la vegetación, y concentraciones de Zn, Cd, Cu y Pb en el sistema foliar de la planta. Las concentraciones de Cd, Zn, Cu y Pb en el sistema foliar del zacate navajita (*Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag) y (*Agrostis stolonifera* L.) no mostraron diferencias significativas entre los tipos de suelo/vegetación con respecto a las condiciones dominantes (Chambers y Sidle, 2009).

El suelo enmendado con lodos residuales después de la quinta estación de crecimiento provocó que las concentraciones de N, P y K permanecieran altas, mientras que el Cu y Cd se incrementaron ligeramente en las partes aéreas de la planta de acuerdo a los límites del pH en el suelo que convenientemente disminuyeron de 7.4 a 7.0 en los tratamientos que presentaron 45 y 90 mg por hectárea de estos elementos, respectivamente. Con la excepción del Mn que es remanente, casi siempre, y con límites convenientes, las concentraciones de metales (incluyendo Cu y Cd) en los tejidos de zacate navajita no son significativamente diferentes, en comparación

con las concentraciones presentes en los tratamientos control después de la quinta estación de crecimiento (Fresquez *et al.*, 1991).

### **2.11. Taxonomía de *Medicago sativa* (alfalfa)**

Alfalfa L., es una leguminosa de vida perenne extensa. Los tallos de alfalfa son erectos y crecen en la cima del monte cerca de 2 a 3 pies de alto. Las raíces de la planta pueden penetrar en el suelo causando gran penetración en lo profundo del interior del suelo. Las hojas son alternadas dispuestas en el peciolo y son normalmente trifoliadas (Leithead *et al.*, 1976).

Perenne erecto o ascendente de 30-90 cm, con hojas trifoliadas alternadas: hojas de 30 mm. La profundidad de la raíz es de 2 - 4-m, o a más profundidad, y en suelos con drenaje a pozas de agua (Heichel, 1982).

Las inflorescencias son racimos compactos alcanzando 40 mm, comenzando en las axilas de hojas crecientes, flores purpuras de 8 mm, típicamente papiloneaceas (Fairey y Lefkovitch, 1991).

Las raíces de la alfalfa (*Medicago sativa*) pueden extenderse hasta profundidades superiores a los 6 metros. *Medicago sativa* es un ejemplo de dicotiledónea herbácea que presenta algo de crecimiento secundario (Raven *et al.*, 1992)

La alfalfa es una planta herbácea vivaz que se perpetua por su tallo subterráneo o por los brotes nacidos sobre las raíces; sus tallos rameados, apenas peludos, con hojas alternadas de 3 folíolos iguales entre ellos, dentadas en el extremo, puede alcanzar de 20 a 70 cm de altura (Tymowski, 1984).

### **2.12. Taxonomía de *Lolium perenne* (zacate ballico)**

Cuenta con un tamaño de hasta 1 a 1.3 m de alto, con un tallo cespitoso (forma matas aglomeradas), erecto o doblado en los nudos, de hojas con vainas foliares con aurículas (orejas) conspicuas hacia el ápice; lígulas de 1-4 mm de largo; lámina de hasta 22 cm de largo y 8 mm de ancho, lisas en el

envés, opacas y ásperas en el haz. (Perdomo-Roldán y Mondragón- Pichardo, 2010).

Son racimos compuestos de 1 a 3 (raramente 6) espigas persistentes, en forma de peines, compuestas de 40 a 100 espiguillas, el eje de cada espiga termina en una espiguilla y nunca presenta sobre su superficie pelos de base engrosada (a veces presenta pelillos diminutos); en la madurez las espiguillas se desprenden por arriba de las glumas; las glumas superiores frecuentemente con pelos largos de base engrosada ubicados sobre su vena central; la arista central de las lemas está flanqueada por 2 lóbulos membranosos (Canudas-Lara y Cabañas-Acosta, 2010).

### **2.13. Taxonomía de *Bouteloua gracilis* (zacate navajita)**

Planta perenne, tallos densamente amacollados, erectos, de 20 a 50 cm de altura, a veces mayores, hojosos en sus bases (Hernández-Xolocotzi. 1987, Mejía-Saules y Dávila-Aronda, 2010).

Es una planta anual que bajo condiciones ambientales buenas, se puede comportar como bianual y tiene un crecimiento entre 30 y 100 cm de altura. Sus hojas son verdes y sin vello, finamente puntiagudas y enrolladas cuando son brotes jóvenes; miden de 6 a 25 cm de largo y de 3 a 6 mm de ancho; son brillantes, lisas o ligeramente rugosas en el haz y lisas en el envés (Ramos-González *et al.*, 2000).

Tiene un tamaño de hasta 70 cm de alto, de tallo delgado, con hojas alternas, dispuestas en 2 hileras sobre el tallo, aunque la mayoría concentradas en la base de la planta, con las venas paralelas; divididas en 2 porciones, la inferior llamada vaina que a veces presenta algunos pelos largos, y la parte superior de la hoja llamada lámina, plana (al menos en la base), de hasta 15 (raramente 30) cm de largo (Hanan-Alipi y Mondragón-Pichardo. 2010, Beltrán-López *et al.*, 2010).

### **2.14. Usos del zacate ballico.**

Las dos especies fundamentales de *Lolium* están tomando notable importancia en la agricultura mexicana como cultivos para cosecha de forraje

verde de buena calidad, además de ofrecer cualidades para mejorar el suelo donde son establecidos y de proporcionar una defensa contra la erosión del suelo; sin embargo, su principal uso es como forraje a través del pastoreo. Para pastos temporales, suele sembrarse solo o en combinación con otras gramíneas como la avena, o leguminosas como el Trébol Alejandrino, Ebo o Veza y para mejorar la producción de la pradera o incrementar el valor nutritivo de los forrajes (Ramos González *et al.*, 2000).

### **2.15. Usos del Zacate Navajita.**

Este zacate representa la especie forrajera más importante de los extensos pastizales nativos de la región semiárida del país. Tiende a aumentar su población bajo pastoreo moderado y al secarse en pie conserva gran parte de su valor nutritivo. El pasto navajita se aprovecha principalmente durante la época de lluvias y en los meses iniciales del periodo seco invernal. Se utiliza como pastoreado y apetecido, henifica bien en pie; tolera pisoteo moderado (Hernández-Xolocotzi, 1987).

Es una importante especie forrajera nativa, tanto para animales domésticos como silvestres, tanto por cantidad como por calidad. También seca sigue siendo atractiva para mamíferos y mantiene un nivel nutricional aceptable. El contenido de proteína crudo varía, pero generalmente se encuentra entre 5 y 10 % (Anderson, 2010).

### **2.16. Usos de la alfalfa.**

La alfalfa se cultiva no solo para forraje. Muchas personas comen brotes de alfalfa en ensaladas. Hay quienes comen hasta las hojas, ya sea cocidas o crudas (Alfalfa-Página de ciencias, 2010).

En el siglo XX Luís Cabrera proporciona los siguientes usos; aperitivo, asimilación de calcio en el embarazo, dispepsia eupéptica, galactógeno y tónico (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2010).

### **III.- MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1. Localización Geográfica del área en Estudio**

La región lagunera se localiza en la parte central de la porción norte de México. Se encuentra ubicada en las coordenadas latitud norte 25° 33' 25" y 103° 21' 57" de longitud Oeste. La ciudad de Torreón, Coahuila está a una altitud de 1137 metros sobre el nivel del mar, la región cuenta con extensión montañosa y una superficie plana donde se localizan áreas agrícolas.

#### **3.2. Ubicación del área de estudio.**

El Campus universitario se ubica en el periférico Raúl López Sánchez que conduce a Gómez Palacio, Durango y carretera a Santa Fe km 15 en Torreón Coahuila, México. Cuenta con una superficie de 37 ha de las cuales, aproximadamente 2.5 son utilizadas en instalaciones universitarias y el resto para realizar actividades de práctica agropecuaria y de investigación.

#### **3.3. Diseño Experimental.**

Se utilizó un diseño experimental de "bloques al azar" con cuatro tratamientos y 10 repeticiones donde la planta es la unidad de tratamiento biológico experimental. Se realizó la distribución de las macetas que contendrán los tratamientos biológicos y el diseño del croquis experimental el cual se muestra en el cuadro 1.

#### **3.4. Aleatorización de las Muestras.**

Se usaron papeles para el sorteo con una nomenclatura TnRn, para cada tratamiento y para las 10 repeticiones. Se sortearon los 40 papeles con las repeticiones asignadas para cada tratamiento y a cada número de maceta consecutivo se le asignó la nomenclatura según se elegía el papel en cada sorteo para preparar el croquis.

**Cuadro 1. Resultados del Diseño de Bloques al Azar.**

<b>Croquis del diseño experimental.</b>			
<b>Bloque 1</b>	<b>Bloque 2</b>	<b>Bloque 3</b>	<b>Bloque 4</b>
1-T3R2	11-T1R2	21-T1R5	31-T4R3
2-T2R7	12-T2R1	22-T2R1	32-T4R2
3-T4R10	13-T2R4	23-T1R10	33-T1R8
4-T1R6	14-T2R2	24-T1R9	34-T2R3
5-T4R8	15-T1R7	25-T1R1	35-T4R1
6-T3R10	16-T1R3	26-T1R4	36-T4R4
7-T3R6	17-T2R9	27-T4R7	37-T3R1
8-T3R7	18-T4R9	28-T2R6	38-T3R5
9-T2R8	19-T4R5	29-T3R8	39-T3R9
10-T2R10	20-T3R4	30-T4R6	40-T2R5

N 

Se asignó la nomenclatura a cada maceta en etiquetas preparadas para resistir las inclemencias del tiempo en base a los bloques de diseño al azar. Se colocaron las macetas en el sitio experimental en dirección al norte señalado en el croquis en base al sorteo se colocaron en líneas de 4 cada una con 10 macetas, con un espacio entre macetas de 50 cm en cada línea y con un espacio entre cada repetición de 25 cm.

Al momento de sembrar se agregó un elemento controlado al azar en los bloques sorteados, por cada repetición de tratamiento se asignó un número determinado de tapas de botellas de plástico las cuales contenían un cierto número de semillas (Cuadro 2.).

**Cuadro 2. Variación del número de Semillas.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Repetición</b>	<b>Nº de tapas</b>	<b>g/Semilla alfalfa.</b>	<b>Nº de Población</b>
<b>ALFALFA</b>	I,II,III	1	4.1	894
	IV,V,VI	2	8.5	1853
	VII,VIII,XI	3	13.5	2943
	X	1.5	2.8	610
			<b>g/Semilla. ballico</b>	<b>Nº de Población</b>
<b>BALLICO</b>	I,II,III	1	2.3	685
	IV,V,VI	2	4.9	1205
	VII,VIII,XI	3	7.4	2205
	X	1.5	1.4	385
			<b>g/Semilla navajita</b>	<b>Nº de Población</b>
<b>NAVAJITA</b>	I,II,III	1	0.4	240
	IV,V,VI	2	0.9	540
	VII,VIII,XI	3	1.3	780
	X	1.5	0.3	180

### **3.5. Preparación del Sitio de Experimentación.**

Se comenzó por colocar el suelo en un sitio cercano al invernadero del departamento de horticultura de la UAAAN-UL para preparar las macetas, se emplearon guantes y caretas para evitar aspirar el polvo. Posteriormente se realizó la nivelación del área de experimento removiendo la maleza y retirando los escombros del área de estudio.

### **3.6. Preparación de Macetas.**

Se colocó el suelo de MET - MEX PEÑOLES en 40 macetas (a tres cuartas partes de su capacidad), a las cuales se les introdujo en bolsas de polietileno de 10 x 8 x 20 cm para recolectar los lixiviados durante el periodo de experimentación.

### **3.7. Riego de Macetas.**

El riego de las macetas para su mantenimiento se realizó con un aspersor, llenándolo con el agua cercana al invernadero, el agua se aplicó con baja intensidad durante la primera semana para no afectar la siembra de las semillas, posterior a la germinación de las semillas se regó con moderación a un volumen de 200 ml cada ocho días. Este procedimiento se siguió realizando hasta el final del experimento.

### **3.8. Muestras de suelo pretratamiento.**

De la porción más homogénea del suelo contaminado se procedió a recolectar solo una muestra, colocándola en una bolsa de plástico para mantenerla inalterada hasta el laboratorio. Para evitar el contacto directo con la muestra contaminada se emplearon guantes.

### **3.9. Análisis de suelo pretratamiento y postratamiento.**

Con el objetivo de saber en qué condiciones estaba el suelo en el cual se realizaría el experimento se analizaron las variables del suelo como se indica en la norma oficial mexicana NOM-021-RECNAT-2000, por cada uno de los periodos, esto durante el desarrollo del experimento (cuadro 3).

### **3.10. Análisis de metales pesados presentes en suelo.**

Para determinar las concentraciones de plomo, cobre y cadmio en el suelo se utilizó el método y el equipo que se muestran en el Cuadro 4, el cual se realizó para las muestras de suelo pretratamiento y postratamiento.

### **3.11. Muestras de agua de riego pretratamiento.**

Para realizarle los análisis del contenido de metales pesados al agua de riego se consiguió de la salida de agua más cercana al invernadero del departamento de horticultura solo una muestra, recolectándola en una botella de plástico, a la cual se le enjuago tres veces para posteriormente llenarla y subsecuentemente cerrarla para mantener la muestra inalterada, hasta llegar al laboratorio de suelos de la UAAAN, UL.

**Cuadro 3. Parámetros fisicoquímicos del suelo y el método empleado.**

Parámetro	Método	Cantidad	Equipo
Textura	Bouyucos	50 g	Balanza analítica industry, probeta Bouyocous
CIC	NOM-021-RECNAT-2000	4 g	Balanza analítica industry, matraz Erlenmeyer de 125 mililitros, reciprocador Shaker marca Eberbach, extractor de bomba al vacío.
%MO	NOM-021-RECNAT-2000	1 g	Balanza analítica industry, matraz Erlenmeyer de 500 mililitros, pipeta volumétrica de 5 mililitros con perilla, pipeta volumétrica de 10 mililitros, probeta de 100 ml.
CE	NOM-021-RECNAT-2000	250 g	Balanza analítica industry, papel filtro N°1, tubo de ensaye, extractor al vacío, potenciómetro.
pH.	NOM-021-RECNAT-2000	250 g	Balanza analítica industry, papel filtro N°1, tubo de ensaye, extractor al vacío, potenciómetro.
DA	NOM-021-RECNAT-2000	50 g	Balanza analítica industry, probeta de 50 ml.

**Cuadro 4. Metodología del análisis de metales pesados en suelo.**

Parámetro	Método	Equipo
Plomo	NOM-021-RECNAT-2000	Balanza analítica marca industry, reciprocador Shaker, Baño maría marca Rios Rocha S. A. y espectrofotómetro absorción atómica Pekín Elmer.
Cobre	NOM-021-RECNAT-2000	Balanza analítica marca industry, reciprocador Shaker, Baño maría marca Rios Rocha S. A. y espectrofotómetro absorción atómica Pekín Elmer.
Cadmio	NOM-021-RECNAT-2000	Balanza analítica marca industry, reciprocador Shaker, Baño maría marca Rios Rocha S. A. y espectrofotómetro absorción atómica Pekín Elmer.

Posterior a la solución extraída del suelo contaminado, se leyó el As ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del suelo por el método colorimétrico con tiras de ensayo del kit Merckoquant.

### **3.12. Análisis de metales pesados en agua de riego.**

Para el análisis de agua se siguió el método sugerido por la NOM-127-SSA1-1994 para posteriormente leer la concentración de metales pesados en el espectrofotómetro de absorción atómica *Perkin Elmer*. Inicialmente se tomaron 100 mililitros de muestra, la cual se concentró a un volumen final de 30 mililitros (usando planchas de calentamiento marca *Remelsa S. A. de C. V.*, modelo 32-304, de 117 voltios). El volumen final se debe medir en probeta de 50 ml para subsecuentemente filtrarlo con papel filtro número uno.

Como lo indica el método colorimétrico con tiras de ensayo del kit *Merckoquant*, se tomó del concentrado final una muestra líquida para poder leer los mg Lt. de As en agua.

### **3.13. Siembra de las semillas en las macetas.**

En el mes de junio se llevó a cabo la siembra de la alfalfa (*Medicago sativa* L.), zacate ballico (*Lolium perenne* L.) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.), en las macetas. Las semillas se dispersaron abarcando la mayor superficie del suelo de cada maceta, seguidamente se colocó una capa de suelo contaminado de 0.5 cm para cubrir las semillas y subsecuentemente humedecerlo con el agua del departamento de horticultura de la UAAAN, UL.

### **3.14. Días de Germinación.**

A los 15 días después de la siembra comenzó la germinación de las semillas de alfalfa (*Medicago sativa*) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis*) en todas las macetas respectivas.

Mientras que en el zacate ballico (*Lolium perenne*) el tiempo de germinación se presentó hasta el mes de agosto, por ser una especie que crece en condiciones de frío. Estos datos se obtuvieron solo una vez.

### **3.15. Altura de plantas.**

Para obtener la altura dominante de las plantas, se empleó una regla graduada en centímetros. Se tomó al azar la altura de cada tratamiento por número de repetición, desde la base de las plantas hasta el ápice, esto con el

fin de obtener la altura promedio de cada unidad biológica experimental. Este método se realizara cada 8 días durante el desarrollo del experimento.

### **3.16. Temperatura del medio ambiente.**

Se tomara solo una lectura de la temperatura ambiente (°C), cada 8 días durante el desarrollo del experimento, usando un termómetro de alcohol marca Baxters Better Seeds el cual se colocara en la parte más alta y cercana al área de estudio.

### **3.17. Temperatura del Suelo.**

Durante el desarrollo del experimento y cada ocho días se realizaran lecturas de la temperatura del subsuelo de cada tratamiento posterior al riego en cada una de las repeticiones. Obteniendo un promedio mensual de dichas temperaturas.

### **3.18. Obtención de muestras de lixiviados.**

Al cumplirse cada periodo de exposición de las plantas al suelo contaminado y también para el testigo, se seleccionaran al azar una de las diez repeticiones de cada tratamiento, para obtener cuatro muestras de lixiviados. Estas se recolectaran con la ayuda de un embudo para no desperdiciar la muestra, que será colocado en la boca de cada una de las cuatro botellas de plástico, las cuales deberán estar previamente etiquetadas con el nombre del tratamiento, número de repetición, número de maceta y periodo de recolección. Finalmente se trasladaran hasta el laboratorio de suelos de la UAAAN, UL para posteriormente analizarlas.

### **3.19. Análisis de metales pesados en lixiviados.**

Para saber la concentración de plomo, cobre y cadmio en los lixiviados se empleó el método sugerido por la NOM-127-SSA1-1994 para posteriormente leer las concentraciones de estos elementos en el equipo de espectrofotómetro de absorción atómica *Perkin Elmer*. El As ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en los lixiviados se leerá por el método colorimétrico con tiras de ensayo del kit *Merckoquant*.

### **3.20. Obtención de muestras de suelo postratamiento.**

De la parte más profunda y más superficial de cada maceta (0 - 15 cm), se recolectaran al azar cuatro muestras de suelo por tratamiento y repetición, esto con el fin de obtener una muestra más representativa. Se colocaran dentro de bolsas transparentes las cuales deben estar previamente etiquetadas según el tratamiento, repetición y fecha de recolección de la muestra. Finalmente trasladarlas al laboratorio de suelos de la UAAAN, UL.

### **3.21. Obtención de muestras de plantas (raíces, tallos y hojas).**

Durante los tres meses que duro el experimento se obtuvieron ocho muestras de raíces, ocho de tallos y ocho de hojas, que en total fueron veinticuatro muestras de plantas, que se guardaron en bolsas de papel canela previamente etiquetadas con el nombre del tratamiento, repetición y fecha de recolección, esto con el fin de facilitar el secado natural de las muestras. Las raíces se lavaron con agua destilada por 10 minutos para eliminar el exceso de suelo adherido a este órgano, para eliminar de las raíces residuos externos a sus tejidos que pudieran alterar los resultados del análisis de laboratorio.

### **3.22. Análisis de metales pesados en plantas.**

Colocar un g de materia vegetal en matraces *Kendal* de 500 ml, posterior a este paso añadir diez ml de HNO<sub>3</sub> en cada matraz y subsecuentemente dejar en la campana de extracción de 24-36 hr para predigerir. Cumplido el tiempo de predigestión iniciar la digestión por calor colocando los matraces en el digestor *Kendal*, con una temperatura constante de 125 °C. Vigilar la clarificación de las digestiones hasta que presenten baja turbiedad, la digestión se acelera al observar la formación de un residuo mineral en la mayoría de los matraces. Vigilar la evaporación del HNO<sub>3</sub> cada quince minutos hasta que el residuo en las muestras no se mueva a pesar de que se agiten los matraces, cuando esto ocurra sacar del digestor y dejar que se enfríen (USDA-ARS, 2006).

Una vez que se hayan enfriado, aplicar tres ml de HCl y cinco ml de cloruro de lantano en los matraces, procurando abarcar toda la superficie interna de estos, posterior a este paso se debe vaciar la muestra a un matraz

volumétrico de aforación de cincuenta ml usando un embudo y aforarlo con agua destilada a cincuenta mililitros. Terminado este paso se colocara papel filtro número uno en embudos de vidrio para someter a la muestra a una filtración y recolectar el filtrado en frascos de plástico. Finalmente leer el filtrado en el equipo de espectrofotómetro de absorción atómica *Perkin Elmer*. Realizar diluciones si es necesario (USDA-ARS, 2006).

### **3.23. Análisis estadístico de los datos.**

Se utilizara el programa S.A.S. (sistema de análisis estadístico) para evaluar los análisis en suelo y planta que se obtuvieron durante tres meses de experimentación en la UAAAN, UL. Con el fin de obtener las correlaciones más significativas del experimento, así mismo el mejor modelo de predicción del comportamiento de absorción de metales pesados para cada unidad biológica alfalfa (*Medicago sativa* L.), zacate ballico (*Lolium perenne* L.) y zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. Análisis de suelo

#### 4.1.2. Propiedades fisicoquímicas del suelo.

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas del suelo antes de comenzar los tratamientos se muestran en el Cuadro 5.

**Cuadro 5. Resultado de las características fisicoquímicas del suelo, antes de la aplicación de los tratamientos. UAAAN UL. 2012.**

<b>Características.</b>	<b>Número</b>	<b>Método</b>
<b>%Arena</b>	78.4	Bouyucos
<b>%Arcilla</b>	7.0	Bouyucos
<b>%Limo</b>	14.6	Bouyucos
<b>Textura</b>	Migajón Arenoso.	Bouyucos
<b>Cap. Intercambio Catiónico.</b>	6 meq 100 g.	NOM-021-RECNAT-2000
<b>Densidad Aparente</b>	1.4 g cm <sup>3</sup>	NOM-021-RECNAT-2000
<b>%Materia Orgánica</b>	0.718	NOM-021-RECNAT-2000
<b>pH.</b>	7.8	NOM-021-RECNAT-2000
<b>CE (mS/cm)</b>	4.9	NOM-021-RECNAT-2000

En este cuadro se observa que el 78.4 % de las partículas de este suelo lo conforma la arena, por lo cual la textura de este suelo es migajón arenoso. La capacidad de intercambio catiónico es baja, esta se relaciona con un bajo contenido de arcilla en este suelo contaminado. La densidad aparente del suelo es de 1.4 g cm<sup>3</sup>, la cual está muy relacionada con el alto contenido de arena en este suelo. El bajo porcentaje de materia orgánica en este suelo son una característica muy particular de los suelos desérticos.

El valor del pH indica que este tipo de suelo es ligeramente alcalino, así mismo la conductividad eléctrica es alta 4.9 mS cm. Por lo que, los valores de estas características clasifican contundentemente a este sustrato como un suelo desértico.

## 4.2. Análisis del agua de riego.

### 4.2.1. Contenido de metales pesados en el agua de riego

Los resultados de las concentraciones de metales pesados en el agua de riego del departamento de horticultura de la UAAAN, UL se presentan en el Cuadro 6. No se detectaron concentraciones de plomo y arsénico en el agua de riego.

**Cuadro 6. Resultado de las concentraciones de metales pesados en agua de la UAAAN UL. 2012.**

Elemento	Conc. en agua de riego (mg/L)	LMP-NOM-127-SSA1-1994 (mg/L)
Pb	no detectado	0.010
Cd	0.177	0.005
As	no detectado	0.050

El cadmio en el agua de riego excede el límite máximo permisible según la norma LMP-NOM-127-SSA1-1994. El alto contenido de Cd en el agua posiblemente se presentó como un residuo arrastrado desde el sitio de distribución del agua de la universidad, esto indica la probabilidad de que exista una fuente de cadmio en las tuberías que distribuyen el agua en la UAAAN, UL.

## 4.3. Análisis de contenido de metales pesados en suelo.

### 4.3.1. Contenido de metales pretratamiento.

Los resultados de los contenidos de metales pesados presentes en el suelo procedente de la metalúrgica MET MEX PEÑOLES se muestran en el Cuadro 7 los cuales son comparados con la NOM-127-SSA1-1994.

**Cuadro 7. Resultado del contenido de metales pesados en el suelo.**

Análisis de contenido de metales pesados en suelo		
Elemento	Contenido (mg Kg <sup>-1</sup> )	LMP (mg Kg <sup>-1</sup> ) NOM-127-SSA1-1994.
Pb	4245	750
Cd	1460	450
As	100	260
Cu	2600	-----

El cuadro siete muestra que los contenidos de metales pesados en el suelo son sumamente altos, siendo el Pb el metal con mayor concentración en este suelo ( $4245 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Pb), lo cual se relaciona directamente con el tipo de trabajo que la empresa realiza en este predio, de donde se extrajo la muestra.

Kuzovkina *et al.*, (2009), argumenta que el plomo es uno de los contaminantes más comunes de suelo y es considerado a ser uno de los más importantes causantes de polución en el medio ambiente.

Sin embargo Khalil-Gardezi *et al.*, (2006), observaron significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor acumulación del Cu al incrementarse su concentración en el suelo, destacando un efecto positivo en el suelo al adicionarle una concentración de  $20 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cu, que mejoro las características agronómicas.

Sin embargo Ginocchio y Narváez, (2002) han postulado que diversos factores edáficos podrían determinar la biodisponibilidad del cobre y, por lo tanto, la intensidad de sus efectos fitotóxicos, tales como el contenido de materia orgánica y el pH del suelo, además del grado de solubilidad de la forma química en la cual el cobre es incorporado.

Gaete *et al.*, (2010) argumentan que el cobre es un importante contaminante ambiental asociado principalmente a las actividades mineras, en el caso de Chile. Éste altera las características naturales de los suelos en sectores cercanos a dichas actividades, pudiendo provocar efectos adversos sobre los organismos vivos del suelo.

Del mismo modo Yan-de Jing *et al.*, (2010), mencionan que la contaminación del suelo con cadmio puede afectar negativamente a la biodiversidad y la actividad de las comunidades microbianas del suelo

Priya *et al.*, (2008), Meharg y Hartley-Whitaker (2002) destacan que bajo condiciones de saturación de agua en el suelo, la forma del arsenito ( $+3$ ) (una formas de arsénico inorgánico) es más predominante, altamente toxica y más móvil que las formas orgánicas.

#### 4.4. Datos de crecimiento de planta.

En el Cuadro 8 se muestran los resultados del crecimiento de las plantas para un total de 3 meses.

**Cuadro 8. Datos del crecimiento de la planta.**

<b>Crecimiento de plantas</b>					
<b>Días</b>	<b>Ta (°C)</b>	<b>T.s. (°C)</b>	<b>Altura de la planta (cm)</b>	<b>Nº de plantas</b>	<b>Vol. agua (Lt)</b>
<b>Alfalfa</b>					
<b>28</b>	32.0	32.8	2.5	0017	1.6
<b>37</b>	28.0	32.8	4.0	1876	3.2
<b>44</b>	34.0	39.0	5.3	1795	4.8
<b>51</b>	30.0	38.5	5.0	1570	6.4
<b>52</b>	27.5	23.2	5.0	0283	8.0
<b>78</b>	34.0	30.5	4.5	0001	9.6
<b>Zacate ballico</b>					
<b>28</b>	32.0	32.9	1.5	076	1.6
<b>37</b>	28.0	32.3	6.8	992	3.2
<b>44</b>	34.0	39.9	8.0	980	4.8
<b>51</b>	30.0	38.8	9.6	900	6.4
<b>52</b>	27.5	33.1	9.6	900	8.0
<b>78</b>	34.0	31.0	9.6	450	9.6
<b>86</b>	36.0	31.9	9.6	450	11.2
<b>93</b>	34.0	31.5	10.0	010	12.8
<b>100</b>	30.0	27.0	6.7	005	14.4
<b>Zacate navajita</b>					
<b>28</b>	32.0	32.9	3.0	134	1.6
<b>37</b>	28.0	32.3	2.5	570	3.2
<b>44</b>	34.0	39.9	3.5	525	4.8
<b>51</b>	30.0	38.8	3.8	415	6.4
<b>52</b>	27.5	33.1	5.0	230	8.0
<b>78</b>	34.0	31.0	5.0	094	9.6
<b>86</b>	36.0	31.9	5.0	025	11.2
<b>93</b>	34.0	31.5	5.5	006	12.8
<b>100</b>	30.0	27.0	5.0	004	14.4

Ta (°C)= Temperatura ambiente. T.s. (°C)= Temperatura del subsuelo.

Como plantea el INE (2010), a los metales pesados en las plantas, se les atribuye la reducción del crecimiento, en la biomasa y la transpiración; además de lesiones cromosómicas, inhibición de la división celular e interferencia con enzimas ligadas al metabolismo del nitrógeno.

Como lo plantea Bravo-Landro-Varela, (2010), ciertos metales pesados causan desbalance iónico, alteración de la permeabilidad de la membrana celular, reducción del crecimiento e inhibición de la fotosíntesis.

Como demostraron Rodríguez-Serrano *et al.*, (2008), los tratamientos con metales pesados producen reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática, alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática y desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO<sub>2</sub>.

Según lo plantearon Yan-de Jing *et al.*, (2010), los metales pesados como elementos no esenciales, pueden inhibir el crecimiento de raíces y brotes, afectan a la absorción de nutrientes y la homeostasis, y con frecuencia son acumulados por los cultivos de importancia agrícola.

Como confirman los estudios de Meharg y Hartley-Whitaker, (2002), el arsenito (la forma dominante de arsénico fitobioavailable en la parte aeróbica de los suelos) ha manifestado ser tóxico para ciertas especies de plantas que no resisten el estrés causado por la presencia y exposición exagerada al arsénico, esto conlleva a síntomas en la inhibición y crecimiento de las raíces.

De acuerdo a Hernández-Xolocotzi, (1987) el zacate navajita es una planta perenne, tallos densamente amacollados, erectos, de 20 a 50 cm de altura, a veces mayores, hojosos en sus bases.

Según cita Ramos-González *et al.*, (2000) el zacate ballico es una planta anual que bajo condiciones ambientales buenas, se puede comportar como bianual y tiene un crecimiento entre 30 y 100 cm de altura. Sus hojas son verdes y sin vello, finamente puntiagudas y enrolladas cuando son brotes jóvenes; miden de 6 a 25 cm de largo y de 3 a 6 mm de ancho; son brillantes, lisas o ligeramente rugosas en el haz y lisas en el envés, con aurículas angostas y extendidas en la base.

Como lo demuestran Hanan-Alipi y Mondragón-Pichardo, (2010) el zacate navajita presenta raíces fibrosas y someras; pueden extenderse aproximadamente 50 cm radialmente y (pocas) hasta 2 m de profundidad. A veces con tallos subterráneos (rizomas) cortos y robustos. Son más someros en zonas áridas (para absorber rápidamente la poca precipitación).

Según señalan Beltrán-López *et al.*, (2010) el zacate navajita es una planta que alcanza una altura desde la base hasta la inflorescencia, de 50.3 cm.

#### 4.5. Análisis del contenido de metales pesados en suelo postratamiento.

Se determinó el contenido de plomo, cobre, cadmio y metaloide arsénico en el suelo del último mes de experimentación. el suelo del tratamiento 2 (*Medicago sativa L.*) presento menores contenidos de metales pesados que en comparación con el testigo, este no presento una importante disminución de los metales pesados en su perfil (ver en apéndice Cuadro 9.).

#### 4.6. Propiedades fisicoquímicas del suelo al fin del tratamiento.

Los resultados de las características fisicoquímicas del suelo postratamiento se muestran en el Cuadro 10.

**Cuadro 10. Resultado de las propiedades fisicoquímicas del suelo postratamiento.**

<b>Propiedades fisicoquímicas del suelo.</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>% M O</b>	<b>C I C (meq. 100 g)</b>	<b>C E (mS/cm)</b>	<b>pH</b>
<b>Testigo</b>				
<b>Promedio</b>	0.8320000	5.5000	4.4700	7.400
<b>Desviación estándar</b>	0.0648600	0.7071	0.9776	0.031
<b>Alfalfa</b>				
<b>Promedio</b>	0.7018000	3.6200	4.2200	7.710
<b>Desviación estándar</b>	0.0000707	0.5303	0.1449	0.140
<b>Ballico</b>				
<b>Promedio</b>	0.7897000	2.0300	2.6200	7.770
<b>Desviación estándar</b>	0.0082000	0.8655	1.1300	0.160
<b>Navajita</b>				
<b>Promedio</b>	0.8313000	5.2800	0.6367	7.830
<b>Desviación estándar</b>	0.0488900	0.6200	0.4000	0.075

En el cuadro diez se evidencia que los contenidos de materia orgánica se modificaron, comparando el testigo contra los tratamientos con plantas.

El % de materia orgánica en el testigo aumento, esto pudiera estar relacionado con una acumulación de material vegetal ajeno al experimento. El % materia orgánica en los tratamientos con plantas disminuyo, posiblemente al efecto de la asimilación de la materia orgánica por parte de las plantas que se establecieron.

Mientras que los valores de la capacidad de intercambio catiónico, la conductividad eléctrica y el pH disminuyeron al final del periodo de experimentación en el suelo. El pH se mantuvo constante en la mayoría de los tratamientos excepto en el tratamiento con zacate navajita.

Ginocchio y Narváez, (2002) han postulado que diversos factores edáficos tales como el contenido de materia orgánica y el pH del suelo, podrían determinar la biodisponibilidad del cobre y por lo tanto, la intensidad de sus efectos fitotóxicos, además del grado de solubilidad de la forma química en la cual el cobre es incorporado.

Según Gaete *et al.*, (2010) el cobre altera las características naturales de los suelos en sectores cercanos a dichas actividades, pudiendo provocar efectos adversos sobre los organismos vivos del suelo.

#### **4.7. Análisis de los lixiviados.**

Los resultados del contenido de plomo, cobre, cadmio, arsénico se realizaron para cada tratamiento durante los periodos escogidos y se muestran en Cuadro 11.

**Cuadro 11. Resultado del contenido de metales pesados en los lixiviados.**

		<b>Concentración de MP (mg Kg<sup>-1</sup>) en lixiviados</b>		
		<b>30 Díaz</b>	<b>60 Díaz</b>	<b>90 Díaz</b>
<b>Tratamiento</b>	<b>Elemento</b>			
<b>Testigo.</b>	<b>Pb</b>	4.5225	4.4963	4.3800
	<b>Cu</b>	0.7844	0.5775	0.5183
	<b>Cd</b>	0.6000	0.5738	0.5663
	<b>As</b>	0.0375	0.0375	0.0375
<b>Alfalfa.</b>	<b>Pb</b>	4.5113	4.5075	*
	<b>Cu</b>	0.4857	0.4788	*
	<b>Cd</b>	0.5850	0.5738	*
	<b>As</b>	0.0375	0.0375	*
<b>Z. Ballico.</b>	<b>Pb</b>	4.5263	4.4738	4.4813
	<b>Cu</b>	0.6375	0.4696	0.6200
	<b>Cd</b>	0.5663	0.5775	0.5513
	<b>As</b>	0.0375	0.0375	0.0375
<b>Z. Navajita.</b>	<b>Pb</b>	4.5375	4.4700	4.4813
	<b>Cu</b>	0.3141	0.3959	0.4657
	<b>Cd</b>	0.5850	0.5475	0.5663
	<b>As</b>	0.0375	0.0375	0.0375

\*= No se recolectaron muestras de lixiviados debido a que las plantas de alfalfa murieron, por lo cual no se evaluaron los lixiviados de este periodo.

Los contenidos de metales pesados en los lixiviados se presentan en concentraciones menores que las presentes en los suelos. La presencia de estos elementos pesados en los lixiviados puede relacionarse con el alto contenido de arena presente en el suelo, la cual no retiene a los metales pesados por la ausencia de espacios disponibles para su adsorción. Posiblemente el tipo de arcilla en el suelo, aun en pocas cantidades, retendría la mayor porción de estos metales en el perfil del suelo, lo que explicaría que los lixiviados presentaran estos elementos en tan pocas cantidades.

El bajo porcentaje de materia orgánica, de forma similar a las arcillas presentes en este suelo retuvo muy poco a los metales pesados en el perfil del suelo. Los metales pesados presentaron baja solubilidad causada por el pH. La baja capacidad de intercambio catiónico del suelo pudo causar que los metales se retuvieran muy poco en la columna edáfica del suelo empleado.

El efecto de las plantas pudo ser otro factor que influyó en un menor contenido de metales pesados en los lixiviados. Esto puede significar que los

exudados de las raíces de las plantas contenían compuestos orgánicos de metales que también formaron parte de los lixiviados pero estos son más solubles aunque en menor cantidad.

Según reporta Barrientos (2010), en mayo de 2009, el Encuentro Ciudadano Lagunero En Defensa del Agua dio a conocer que un número de norias rebasan los niveles permisibles de arsénico que en 2007 pasó de 15 mg Kg<sup>-1</sup> a 21mg Kg<sup>-1</sup> en 2008. Los últimos resultados entregados por el Sistema Municipal de Aguas y Saneamiento (SIMAS), revelan que el arsénico en el agua aumentó en un promedio del 18 % de acuerdo a las mediciones realizadas en los pozos de junio a noviembre de 2008.

Como anuncia Ramírez-Vargas (2010), el agua subterránea en la Laguna está contaminada con arsénico en cantidades superiores a 10 microgramos por litro.

#### 4.8. Análisis del contenido de plomo en raíz, tallo, hoja en las plantas.

Los resultados de los contenidos de plomo obtenidos se observan en Cuadro 12.

**Cuadro 12. Resultados de los contenidos de plomo en las plantas.**

		Plomo mg Kg <sup>-1</sup>		
Tratamiento	Parte de planta	1er corte 30 Días	2º corte 60 Días	3er corte 90 Días
Alfalfa	Raíz	0080	0760	*
	Tallo	3135	0515	*
	Hoja	0410	0105	*
	Σ	<b>3625</b>	<b>1380</b>	<b>0</b>
Z. Ballico	Raíz	0190	0400	1925.0
	Tallo	-----	0505	356.40
	Hoja	0995	0130	299.75
	Σ	<b>1185</b>	<b>1035</b>	<b>1925</b>
Z. Navajita	Raíz	0895	0158	228.25
	Tallo	-----	0077	134.75
	Hoja	0720	0042	720.50
	Σ	<b>1615</b>	<b>0277</b>	<b>1083.5</b>

\*=la alfalfa no persistió debido a un efecto toxico, el cual se reflejó con síntomas de necrosis celular y muerte masiva de plantas en las demás repeticiones.

El Cuadro 12 muestra la presencia de plomo en concentraciones muy altas en las plantas evaluadas. La alfalfa presenta más contenido de plomo que los zacates tan solo en dos meses.

Como se estableció en el Cuadro 2 variación del número de semillas en el capítulo de materiales y métodos el alto contenido de plomo en las plantas de alfalfa en los primeros treinta días se relaciona con un número específico de 894 plantas establecidas en la maceta que se escogió para su análisis. Mientras que a los sesenta días cumplidos se observa que disminuye la absorción del plomo, esto se relaciona con un alto número de plantas establecidas (2943). No se obtuvo muestra a los noventa días debido a que no quedaron plantas de alfalfa vivas.

Las concentraciones más altas varían según las partes de las plantas. En la alfalfa el mayor contenido de plomo se presenta en los tallos en un periodo de 30 días. Las concentraciones más altas de plomo se presentaron en las hojas del zacate ballico al cumplir un periodo de 30 días en relación con un número específico de 685 plantas establecidas en la maceta seleccionada para este periodo.

Se evidencia también altas concentraciones de plomo en las raíces de zacate ballico a 90 días en relación con un número alto de plantas establecidas en la maceta escogida para ese periodo (2205).

Se comprobó con el análisis estadístico que la alfalfa no presentara errores experimentales en su comportamiento de absorción del plomo ( $P < 0.05$ ), el coeficiente de determinación de 0.82 indica que la absorción del Pb depende mayormente de los contenidos de Cu, Cd y As en la planta. El mejor modelo es el que considero al plomo como variable dependiente (ver en apéndice Cuadro 18). Así mismo el zacate navajita presenta un error experimental mínimo ( $P < 0.01$ ) mientras el coeficiente de determinación expresa mucha significancia en la absorción de metales pesados por parte de esta especie (0.97) (ver en apéndice Cuadro 21).

Por otro lado Hajiboland (2005), menciona dos importantes leguminosas (frijol y alfalfa) que acumulan altas cantidades de metales en sus tallos y raíces por medio de un proceso que se presenta con una marcada diferencia en cada una de las especies empleadas en la extracción y limpieza del suelo.

González-Mendoza y Zapata-Pérez (2008), menciona que se analizó por espectroscopia de rayos X el proceso de acumulación del Pb en los componentes de la pared celular de las raíces de *Medicago sativa* y *Juglans regia*, estos registraron la formación de enlaces del Pb con complejos de lignina y celulosa, respectivamente. Los autores atribuyen este efecto al incremento de la actividad de la peroxidasa que estimula la biosíntesis de la lignina en respuesta al estrés causado por este metal.

Como es planteado por Chhotu *et al.*, (2008) las dosis mínimas de cadmio, níquel, plomo, cobre y zinc promovieron el crecimiento de las raíces de alfalfa en comparación con el crecimiento de las raíces de las plantas control. El cadmio, níquel, cobre y plomo a concentraciones elevadas demostraron inhibir el crecimiento de las raíces de alfalfa.

Contundentemente Chhotu *et al.*, (2008) aclaran por otro lado, que las dosis mínimas de Cu, Pb, Ni y Zn incrementan la longitud de los tallos de la alfalfa en comparación con el tratamiento control. También establecieron una dependencia entre las excesivas concentraciones de Cu, Pb, Ni y Zn y la inhibición del crecimiento de los tallos de la alfalfa en comparación con las plantas control.

Como es mencionado por Kos *et al.*, (2003) el potencial de fitoextracción disminuye con diferentes metales, siendo estos los potenciales de fitoextracción para *Medicago sativa* respectivamente  $0.43 \text{ Pb} > 0.37 \text{ Zn} > 0.015 \text{ Cd}$ . La cantidad total de metales pesados en el suelo (analizados por el espectroscopio de absorción atómica) después de la digestión, se presentó en las siguientes concentraciones de  $1100 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Pb,  $800 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Zn y  $5.5 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cd.

Como reportan Chen *et al.*, (2005) La concentración de Pb en raíces y tallos son pobres en las especies *T. repens* y *L. perenne* en presencia de una alta cantidad de micorrizas. La concentración de Pb en tallos y raíces de las cinco especies de plantas fue significativamente más alta en los puntos con micorrizas inoculadas, en comparación con las plantas a las que no se les inocularon micorrizas, esto para las dos concentraciones de Pb  $300$  y  $600 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Pb respectivamente.

Como lo plantean Torri y Lavado (2009), el potencial toxico de los elementos Zn, Cu, Cd y Pb en los tejidos aéreos de *Lolium perene*, determino su concentración para cada uno de los tratamientos durante el primer y último corte del follaje del zacate ballico. Las concentraciones de cadmio y plomo fueron detectadas en las partes aéreas de *Lolium perene*.

Según cita Nwachukwu y Pulford (2009), la concentración de Pb en las hojas del zacate ballico que crecía en el suelo sin composta fue de 55 mg Kg<sup>-1</sup>, pero esta concentración se reducida a 40 mg Kg<sup>-1</sup> cuando se le adiciono una ración de composta al 1%, 25 mg Kg<sup>-1</sup> con 10% de composta, y cerca de 20 mg Kg<sup>-1</sup> cuando se adiciona solo 20 %.

Acorde a Madejon *et al.*, (2001), los valores en mg Kg<sup>-1</sup> de As, Cd, Cu, Pb y Zn en la materia seca del zacate ballico en condiciones experimentales fueron relativamente bajas, con excepción del Zn (32.7 mg Kg<sup>-1</sup> +-0.2) y en suelos con concentraciones relativamente bajas aun para el Pb (máxima de 334 mg Kg<sup>-1</sup>).

Según plantean *Fresquez et al.*, (1991) el suelo enmendado con lodos residuales después de la quinta estación de crecimiento provocó que las concentraciones de N, P y K permanecieran altas, mientras que el Cu y Cd se incrementaron ligeramente en las partes aéreas de la planta de acuerdo a los límites del pH en el suelo que convenientemente disminuyeron de 7.4 a 7.0 en los tratamientos que presentaron 45 y 90 mg por hectárea de estos elementos, respectivamente. Con la excepción del Mn que es remanente, casi siempre, y con límites convenientes, las concentraciones de metales (incluyendo Cu y Cd) en los tejidos de zacate navajita no son significativamente diferentes, en comparación con las concentraciones presentes en los tratamientos control después de la quinta estación de crecimiento

Basados en Chambers y Sidle (2009), las concentraciones de Cd, Zn, Cu y Pb en el sistema foliar de zacate navajita (*Bouteloua gracilis* (H.B.K.) lag) y (*Agrostis stolonifera* L.) no demostraron diferencias significativas entre los tipos de suelo/vegetación según las condiciones dominantes.

#### 4.9. Análisis del contenido de cobre en raíz, tallo, hoja en las plantas.

Los resultados de los contenidos de cobre en las plantas se muestran en el Cuadro 13.

**Cuadro 13. Resultados de los contenidos de cobre en las plantas por periodos.**

Tratamiento	Parte de planta	Cobre mg Kg <sup>-1</sup>		
		1er corte 30 Días	2º corte 60 Días	3er corte 90 Días
Alfalfa	Raíz	475	845	*
	Tallo	1045	600	*
	Hoja	685	650	*
	Σ	<b>2205</b>	<b>2095</b>	<b>0</b>
Z. Ballico	Raíz	400	565	600
	Tallo	-----	490	395
	Hoja	790	605	670
	Σ	<b>1190</b>	<b>1660</b>	<b>1665</b>
Z. Navajita	Raíz	585	430	535
	Tallo	-----	410	540
	Hoja	535	425	625
	Σ	<b>1120</b>	<b>1265</b>	<b>1700</b>

\*=la alfalfa no persistió debido a un efecto toxico, el cual se reflejó con síntomas de necrosis celular y muerte masiva de plantas en las demás repeticiones.

Se presentan contenidos de cobre muy altos en los tallos de la alfalfa (1045 mg Kg<sup>-1</sup>) en un periodo de exposición de 30 días en relación con 894 plantas establecidas en esta maceta seleccionada para este periodo, lo cual manifiesta que los tejidos del xilema y floema de la alfalfa emplean mas este elemento para la generación de estos tejidos, por el tiempo en que se presentan estas concentraciones, indica que los exudados transportaron este elemento en forma de un compuesto que se mueve con gran fluidez a través de los tejidos de la raíz. Ha un periodo de 60 días los contenidos de cobre son un poco más bajos, esto se relaciona con un número mayor de plantas (2943) aunado a posibles efectos de desequilibrio osmótico y un posible efecto de hiperdilatación de los conductos del floema. De forma similar los contenidos de cobre más altos se presentaron en las raíces de la alfalfa durante este periodo en relación con un número mayor de plantas.

En contraste los contenidos más altos de cobre se presentaron en las hojas del zacate ballico en un periodo de 30 días (790 mg Kg<sup>-1</sup>) en relación con un número bajo de plantas establecidas (685), indicando de forma precisa que el

zacate ballico emplea el cobre en sus funciones biológicas para aumentar el proceso de fotosíntesis.

Como es planteado por Chhotu *et al.*, (2008) las dosis mínimas en cadmio, níquel, plomo, cobre y zinc promovieron el crecimiento de las raíces e incrementaron la longitud de los tallos de la alfalfa en comparación con el crecimiento de las raíces de las plantas control. El cadmio, níquel, cobre y plomo a concentraciones muy elevadas demostraron una dependencia en la inhibición del tamaño de los tallos y raíces de las plantas, inhibiendo su crecimiento en comparación con las plantas control.

Según Reichman (2010), en *R. sativus*, *L. sariva* y *Lolium perenne* (ryegrass perene) la actividad de los iones libres fue medida, siendo mejor la absorción del Cu por las plantas en comparación con el Cu total extraído del suelo con CaCl<sub>2</sub>. Por ejemplo, 60 % del Cu en las raíces de *Lolium multiflorum* (ryegrass Italiano) y *T. pratense* fue ligado por su pared celular y la membrana plasmática. Así mismo Reichman (2010), asevera que la cisteína es una proteína que está poco contenida en las metalotioneínas pero por advertirlo así la cisteína actúa con un mecanismo similar al de las metalotioneínas en la reducción de la toxicidad de Cu.

Según Martínez-Salazar (2005), las plantas que recibieron el tratamiento con Cd, exhibieron promedios más altos para el número de hojas muertas, número de vástagos muertos, y número de vástagos vivos. En general, *B. gracilis* también tuvo más vástagos vivos en la solución de cadmio en comparación al tratamiento testigo. El peso fresco y seco de las hojas fue mayor para plantas que recibieron cadmio comparadas al testigo. La tasa de elongación de la hoja fue mayor en plantas de *B. gracilis* que recibieron cadmio comparado con las plantas testigo.

Como explican Memon *et al.*, (2001) casi siempre, estos cambios tienen esencialmente a presentarse en las puntas de hojas tolerantes al Cu y Zn. El complejo metal-fitoquelatinas activa subsecuentemente su transportación desde el citosol a la vacuola.

Cobbett y Goldsbrough (2002), sugieren que es posible, casi siempre, que se formen complejos de fitoquelatinas-Cu que son relativamente fáciles de

secuestrar en la vacuola. También algunas metalotioneinas en las plantas son funcionales ligando el Cu a proteínas; la expresión de algunos genes de metalotioneinas son inducidos por el Cu.

#### 4.10. Análisis del contenido de cadmio en raíz, tallo, hoja en las plantas.

Los resultados de los contenidos de cadmio en las plantas se muestran en Cuadro 14 en un periodo de exposición de 90 días.

**Cuadro14. Resultados de los contenido de cadmio en las plantas por periodos.**

Tratamiento	Parte de planta	Cadmio mg Kg <sup>-1</sup>		
		1er corte 30 Días	2º corte 60 Días	3er corte 90 Días
Alfalfa	Raíz	190	175	*
	Tallo	190	97.5	*
	Hoja	255	205	*
	Σ	<b>635</b>	<b>380</b>	<b>0</b>
Z. Ballico	Raíz	275	80.85	148.5
	Tallo	-----	112.2	107.25
	Hoja	65	120	145.75
	Σ	<b>340</b>	<b>313.05</b>	<b>401.5</b>
Z. Navajita	Raíz	250	62.5	173.25
	Tallo	-----	58.75	178.75
	Hoja	250	61.25	214.5
	Σ	<b>500</b>	<b>182.5</b>	<b>566.5</b>

\*=la alfalfa no persistió debido a un efecto toxico, el cual se reflejó con síntomas de necrosis celular y muerte masiva de plantas en las demás repeticiones.

Los contenidos de cadmio en alfalfa son moderados, durante los primeros treinta días los contenidos de cadmio son mayores en comparación con los contenidos de cadmio a sesenta días en relación con un número de plantas establecidas de 894 y 2943 respectivamente.

Los contenidos de cadmio en zacate ballico son más estables y estos se relacionan con la regresión lineal del análisis estadístico (ver Cuadro 19 en apéndice). Mientras que los contenidos de cadmio en zacate navajita son elevados y se relacionan con un número alto de plantas establecidas durante los periodos de treinta y noventa días (780 y 540 plantas respectivamente).

Los resultados indican que a las plantas de zacate navajita les toma más tiempo de lo pensado en absorber cantidades altas de este metal, por lo cual pudiera suceder la opción de incrementar el número de plantas de esta especie para absorber concentraciones más altas de este elemento.

Como demuestra el análisis estadístico, el modelo indica la probabilidad de que las plantas absorban cantidades más altas de cadmio. Esto se puede observar en el apéndice (Cuadros 18, 19, 21).

Basados en el trabajo de Li *et al.*, (2005), el rendimiento moderado y la concentración de cadmio en los tallos de alfalfa están por encima de 0.64 mg Kg<sup>-1</sup>. Sin embargo esta concentración no causa niveles de fitotoxicidad en la alfalfa.

Singh *et al.*, (2009), revela que la absorción de Cd metálico por *M. sativa* a varias concentraciones en condiciones in Vitro bajo hidroponía por un periodo de 21 días, se incrementa significativamente en raíces y tallos lo cual esta relacionado con el incremento en las concentraciones del metal en el medio hidropónico, por lo cual el cadmio se presenta más en las raíces que en hojas de la alfalfa.

De acuerdo a Martínez-Salazar (2005), las plantas que recibieron el tratamiento con Cd, exhibieron promedios más altos para el número de hojas muertas, número de vástagos muertos, y número de vástagos vivos. En general, *B. gracilis* también tuvo más vástagos vivos en la solución de cadmio en comparación al tratamiento testigo. El peso fresco y seco de las hojas fue mayor para plantas que recibieron cadmio comparadas al testigo. La tasa de elongación de la hoja fue mayor en plantas de *B. gracilis* que recibieron cadmio comparado con las plantas testigo.

De igual forma Cobbett y Goldsbrough (2002), demuestran que el gen Hmt 1 pertenece a la familia de los ligandos ATP del grupo (ABC) que son las proteínas transportadoras del Cd localizadas en la membrana de la vacuola.

En el estudio de Milner y Kochian (2008), en el pasado describieron e identificaron a la proteína TcHMA4 que esta conferida a la tolerancia de Cd, ahora se conoce de otra familia de genes, la familia metalotioneinas, en donde puede aportar o conferir tolerancia al Cd.

Pernia *et al.*, (2008) Con la unión del Cd a la fitoquelatina el complejo es secuestrado y llevado a las vacuolas, donde se forma un complejo molecular pesado con sulfuro (Cd-FQ-S) que ha sido considerado como la forma más estable para almacenar el metal. Encontraron que estos péptidos actúan como agentes quelatantes, formando complejos con metales pesados en las plantas.

#### 4.11. Análisis del contenido de arsénico en raíz, tallo, hojas en las plantas.

Los resultados de los contenidos de arsénico en las plantas se muestran en Cuadro 15.

**Cuadro 15. Resultado de los contenidos de arsénico las plantas por periodos.**

Tratamiento	Parte de planta	Arsénico mg Kg <sup>-1</sup>		
		1er corte 30 Días	2º corte 60 Días	3er corte 90 Días
<b>Alfalfa</b>	<b>Raíz</b>	50	50	*
	<b>Tallo</b>	50	25	*
	<b>Hoja</b>	50	50	*
	<b>Σ=</b>	<b>150</b>	<b>125</b>	<b>0</b>
<b>Z. Ballico</b>	<b>Raíz</b>	50	66	27.5
	<b>Tallo</b>	-----	82.5	16.5
	<b>Hoja</b>	50	25	27.5
	<b>Σ=</b>	<b>100</b>	<b>91</b>	<b>27.5</b>
<b>Z. Navajita</b>	<b>Raíz</b>	50	12.5	27.5
	<b>Tallo</b>	-----	12.5	27.5
	<b>Hoja</b>	50	12.5	27.5
	<b>Σ=</b>	<b>100</b>	<b>37.5</b>	<b>82.5</b>

\*=la alfalfa no persistió debido a un efecto toxico, el cual se reflejó con síntomas de necrosis celular y muerte masiva de plantas en las demás repeticiones.

Los resultados muestran que las concentraciones de arsénico en las plantas son muy altas en comparación con los contenidos iniciales en el suelo antes de iniciar los tratamientos.

En él las raíces y tallos del zacate ballico se presentaron los contenidos de arsénico más altos. Las hojas de todas las plantas presentaron contenidos de arsénico muy altos durante los primeros periodos en relación con un mínimo número de plantas establecidas, sobre todo de alfalfa y zacate ballico. Mientras que al término del experimento disminuyo los contenidos de arsénico en todas las hojas de las plantas en relación con un alto número de plantas establecidas en las macetas seleccionadas para estos periodos.

Se comprobó con el análisis estadístico un mínimo grado de error experimental para el zacate navajita ( $P < 0.01$ ), se demostró gran significancia en el modelo que considera al plomo como variable dependiente en relación a la absorción del arsénico por parte del zacate navajita (ver en apéndice Cuadro 21).

Sharma y Dietz (2006), confirman que casi siempre, las fitoquelatinas son importantes para la desintoxicación de algunos grupos limitados de metales como lo son  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  y  $AsO^{-2}$  así mismo  $Zn^{+2}$  y  $Ni^{+2}$  que causan la presencia de fitoquelatinas y exhiben baja afinidad de ligación.

Según lo aseveran Meharg y Hartley-Whitaker (2002), la forma en que los tejidos de las plantas toman el arsenito en un cierto rango es por complejación con fitoquelatinas. Las plantas presentan una variada sensibilidad o resistencia al arsénico. La resistencia es generalmente activada vía supresión de la alta afinidad al sistema de absorción de fosfato/arsenato.

Plantean Cobbett y Goldsbrough (2002) en contraste, casi siempre, se ha demostrado la formación de complejos de fitoquelatina-As en vivo y dentro de la planta.

Sharma y Dietz (2006), dicen que el arsénico induce la formación de vacuolas con la acumulación de especies de thiol.

#### **4.12. Correlaciones entre características fisicoquímicas y los metales pesados en las raíces, tallos y hojas de las plantas.**

Los resultados de los coeficientes de correlación simple se muestran en Cuadro 16.

**Cuadro 16. Resultado de las relaciones entre metales pesados en plantas y las propiedades del suelo.**

<b>Pares (*)</b>	<b>Coefficiente de Correlación.</b>	<b>P</b>
<b>PbTotH-CIC</b>	0.59165	0.1223
<b>PbTotH-pH.</b>	0.54461	0.1628
<b>CuTotH-MO</b>	-0.51889	0.2327
<b>CuTotH-CIC</b>	-0.51593	0.2359
<b>CuTotH-CE</b>	-0.51366	0.2383
<b>CuTotH-pH.</b>	-0.51498	0.2369
<b>MO-CdTotH</b>	<b>-0.74912</b>	0.0526
<b>pH-CdRTot</b>	-0.52175	0.2297

<b>pH-CdTotH</b>	-0.51526	0.2366
<b>MO-AsTotH</b>	<b>-0.81568</b>	0.0253
<b>CIC-AsTotTALL</b>	-0.55473	0.1962

(\*)=Se combinaron todos los datos de la absorción de metales pesados de las tres especies de plantas (raíz, tallo y hoja) en la correlación con las características fisicoquímicas del suelo. PbTotH= Plomo total en Hojas. CuTotH=Cobre Total en Hojas. CdTotH=Cadmio total en Hojas. CdRTot= Cadmio en raíz total. AsTotH=Arsénico total en Hojas. AsTotTALL=Arsénico total en tallo.

Las relaciones más significativa fueron negativas y se presentaron en la absorción del As y Cd en las hojas de las tres especies de plantas respecto a los contenidos de materia orgánica, pero con un mínimo de error experimental considerable ( $P < 0.05$ ).

Las relaciones entre los contenidos de Cu, Cd, As, en las raíces, tallos y en algunas de las hojas de las plantas (alfalfa, zacate ballico y navajita) respecto a la materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, pH y la conductividad eléctrica son negativas, lo cual implica que las propiedades originales del suelo desfavorecen la absorción de estos metales en estas partes vegetativas de las plantas evaluadas.

La relación entre los contenidos de plomo en las hojas con la capacidad de intercambio catiónico y el pH son relativamente positivas, esto establece una relevancia en cuanto al desempeño de la absorción del plomo por las plantas (alfalfa, zacate ballico y navajita) el cual no resulta ser muy dañino para estas especies, por lo cual estas propiedades favorecen la absorción de este elemento toxico.

Como demuestran Rodríguez-Serrano *et al.*, (2008), las plantas expuestas a suelos contaminados con cadmio presentan modificaciones en la apertura estomática, fotosíntesis y transpiración. Uno de los síntomas más extendidos de la toxicidad por cadmio es la clorosis producida por una deficiencia en hierro, fosfatos o por la reducción del transporte de Mn. El tratamiento con cadmio produce reducción de la actividad ATPasa de la membrana plasmática, alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática y desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación de CO<sub>2</sub>.

Como explican Yan-Jing *et al.*, (2010), el cadmio, como metal pesado tóxico no esencial para las plantas, demuestra un problema, porque puede inhibir el crecimiento de raíces y brotes, afectando la absorción de nutrientes y la homeostasis, y con frecuencia es acumulado por los cultivos de importancia agrícola.

Como lo citan Alkorta *et al.*, (2004) este elemento puede acumularse en las plantas logrando causar síntomas de toxicidad.

Según lo reportado por Prieto-Méndez *et al.*, (2009), el plomo puede causar diversos daños en las plantas y en diferentes grados de acumulación. En algunas especies, la acumulación de plomo, a medida que se aumentan las dosis de este en el suelo hasta  $1000 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Pb, tiende a incrementarse rápidamente en los órganos de las plantas hasta que éstas no lo toleran y mueren.

Como los estudios de Bravo-Landro-Varela (2010), el cobre causa desbalance iónico, alteración de la permeabilidad de la membrana celular, reducción del crecimiento e inhibición de la fotosíntesis.

Como argumentan Meharg y Hartley-Whitaker (2002), estudios del arsenato (la forma dominante de arsénico fitobioavailable en la parte aeróbica de los suelos) han manifestado ser tóxico para ciertas especies de plantas que ya no resisten el estrés causado por la presencia y exposición exagerada al arsénico, con síntomas en la inhibición y crecimiento de las raíces. Esta evidencia significa que la exposición a especies de arsénico inorgánico resulta en la generación de especies de oxígeno reactivo en las plantas.

Como lo citan Alkorta *et al.*, (2004) este elemento puede acumularse en las plantas logrando causar síntomas de toxicidad.

Como los estudios de Bravo-Landro-Varela (2010), el cobre causa desbalance iónico, alteración de la permeabilidad de la membrana celular, reducción del crecimiento e inhibición de la fotosíntesis.

Los resultados encontrados por Khalil-Gardezi *et al.*, (2006), se ha observado significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor acumulación de Cu al incrementarse su concentración en el suelo, destacando un efecto positivo en el suelo con una concentración de  $20 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cu mejorando las características agronómicas.

## V.- CONCLUSIONES.

Se demostró con este trabajo de experimentación que la alfalfa (*Medicago sativa* L.) es capaz de absorber grandes contenidos de metales pesados (3625 mg Kg<sup>-1</sup>) los cuales se presentan en mayor concentración dentro de los tallos (3135 mg Kg<sup>-1</sup>), el zacate ballico (*Lolium perenne* L.) es capaz de absorber ligeras concentraciones de metales pesados (Pb=1925 mg Kg<sup>-1</sup>, Cu=1665 mg Kg<sup>-1</sup>, Cd=401.5 mg Kg<sup>-1</sup> y As=100 mg Kg<sup>-1</sup>) y el zacate navajita (*Bouteloua gracilis* L.) es capaz de absorber mínimas concentraciones de metales pesados en sus tejidos (Pb= 1615 mg Kg<sup>-1</sup>, Cu= 1700 mg Kg<sup>-1</sup>, Cd= 566.5 mg Kg<sup>-1</sup> y As= 100 mg Kg<sup>-1</sup>). Conjuntamente se confirma la hipótesis que considera a la alfalfa como la planta que absorbe las más altas concentraciones de metales pesados del suelo.

Los periodos de experimentación demostraron que las plantas necesitan muy poco tiempo para extraer la mayor concentración de metales pesados, se confirma contundentemente solo para alfalfa que solo son necesarios 30 días exactos para absorber altos contenidos de metales pesados del suelo contaminado.

El experimento comprobó que no es necesario establecer una gran cantidad de plantas para extraer el máximo contenido de metales pesados de un suelo con polución, se rechaza contundente la hipótesis que establece que a un número alto de plantas establecidas en un suelo con polución habrá una gran absorción de metales pesados en las plantas, con excepción para el zacate navajita el cual puede incrementar su número de plantas a establecer para absorber más cadmio del suelo.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

- Alfalfa-Pagina de ciencias. (en línea) 2002. Disponible en [http://www. Gardenmosaics.cornell.edu/pgs/science/spanish/pdfs/alfalfa\\_science\\_page.pdf](http://www.Gardenmosaics.cornell.edu/pgs/science/spanish/pdfs/alfalfa_science_page.pdf), consultado el 2010.
- Alkorta I., J. Hernández-A, J. M. Becerril, I. Amezaga, I. Albizu y C. Garbisu. 2004. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Review environmental science and Bio/Technology*. N° 3. 71-90.
- Anderson, M. D. (en línea) 2003. *Bouteloua gracilis*. In: In: Fire Effects Information System, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory (Producer). Disponible: [http://www. fs. fed.us/database/feis/](http://www.fs.fed.us/database/feis/). Consultado en 2010.
- Andra S. S., R. Data D. Sarkar, C. K. Makris, P. C. Mullens V. S. Sahi, y B. H. S. Bach. 2008. Induction of lead-Binding Phytochelatins in Vetiver Grsass (*Vetiveria Zizanoides* (L.)). *J. Environ. Qual.* N°38. pp 868-877.
- Argonne National Laboratory, EVS. Human Health Fact Sheet, (en línea) 2005. Lead the Toxicological Profile for Lead, prepared by the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) y disponible en <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>). Consultado 7 septiembre 2010.
- Arsénico en posos de aguas domésticos. (en línea) 2003. Disponible en: [http://www.cdphe.state.co.us/dc/envtox/Arsenic\\_DW\\_factSpanishweb.pdf](http://www.cdphe.state.co.us/dc/envtox/Arsenic_DW_factSpanishweb.pdf). Consultado 2010.
- Atimanav, G. y A. Adholeya. 2004. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *CURRENT SCIENCE*, VOL. 86, NO. 4. 528-534.

- Beltrán López S., C. A. García Díaz, J. A. Hernández Alatorre, C. L. Osti, J. U. Morales, L. A. González Eguiarte y H. G. Gámez Vázquez. 2010. "Navajita Cecilia." A new blue grama *Bouteloua gracilis* H.B.K. (Lag.), variety for arid and semiarid areas. *Rev. Mex CiencPecu* Vol. 1. N° 2 pp. 127-130.
- Barnes D. K., C. C. Sheaffer., R. F. Barnes., D. A. Miller. Y C. J. Nelson. 1995. *Alfalfa. Forages, An Introduction to Grassland Agriculture*, IowaStateUniversity Press, Ames. Edición 5. Vol.1. pp. 205-216.
- Barrientos C. (en línea) 2009. Enfrentan desafío ambiental. Disponible en: <http://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/471303.html>. Consultado: 2010.
- Baudran Y. (en línea) 2005. Metales Pesados, Ambiente y Salud. Disponible en <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=29>. Consultado el 27 de septiembre de 2010.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (En línea) 2009. Disponible en: <http://www.Medicina-tradicional-mexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7202>. Consultado en 2010.
- Bravo-Landro-Varela (en línea) 2010. Ontaminacion del suelo. Disponible en <http://www.scribd.com/doc/7743203/Contaminacion-del-suelo-Bravo-Landro-Varela>. Consultado en 2010.
- Broadley M. R., P. J. White J.P.Hammond, I.Zelko, y A. Lux. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist* N°173. 677–702.
- Canudas Lara E. G. y A. Cabañas Acosta (en línea) 2008. Forrajes Tropicales 201 Pastos y Leguminosas. [http://forrajestropicales201.blogspot.com/2008/04/lolium-perenne-y-lolium-multiflorum\\_21.html](http://forrajestropicales201.blogspot.com/2008/04/lolium-perenne-y-lolium-multiflorum_21.html). Consultado el 28/10/10.

- Chambers, J.C. y R. C. Sidle. 2009. Fate of heavy metals in an abandoned lead-zinc tailings pond: 1. Vegetation. [Bouteloua gracilis; Agrostis stolonifera L.; Muhlenbergia asperifolia]. Journal of Environmental Quality Vol 20 N° 4. 745-751.
- Chen X., C. Wu., J. Tang., y S. Hu. 2005. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. Chemosphere N° 60 665–671.
- Chhotu D. J. y M. H. Fulekar. 2008. Phytotoxicity and Remediation of Heavy Metals by Alfalfa (Medicago sativa) in Soil-vermicompost Media, Adv. in Nat. Appl. Sci., Vol. 2, N° 3 141-151.
- Clemens S., M. G. Palmgren., y U. Krâmer., 2002. Review A long way ahead: understanding and engineering plant metal acunulation. TRENDS in Plant Science. Vol.7 N°7. Germany.
- Cobbett C. y P. 2002. Goldsbrough phytochelatins and metallothioneins: Roles in heavy metal Dotoxification and Homeostasis. Australia. Annu. Rev. Plant. Biol. N° 82. pp 53-159.
- Crescent Chemical Company. Lange's Handbook of Chemistry (en linea) 2001. CRC Ed. N°18., disponible en: <http://chemistry.about.Com/od/elementfacts/ha/zinc.htm>., consultado el 27 de septiembre del 2010).
- Dahmani-Mullera H., F. Oorta van y L. Denaixb. 2002. Is metal extraction by Arabidopsis halleri related to exchangeable metal rates in soils amended with different metal-bearing solids?. Environmental Pollution. N° 117. 487-498.
- Díaz Barriga F., M. Monroy Fernández, P. Medellín Milan, A. López Valdivieso y L. M. Nieto Caraveo 2002. La contaminación por metales pesados en suelo y agua del área de Villa de la Paz-Matehuala, SLP.

- Dieta y nutrición. Aplicaciones médicas y terapéuticas. (en línea) 2004. Disponible en: <http://www.iqb.es/nutricion/cobre/cobre.Htm>. Consultado en 2010.
- Duquesnoy I., P. Goupil., I.Nadaud., G. Branlard., A. Piquet-Pissaloux. Y G. Ledoigt. 2009. Identification of *Agrostis tenuis* leaf proteins in response to As(V) and As(III) induced stress using a proteomics approach. *Plant Science*. N° 176. 206–213.
- Enfermedades causadas por exceso o falta de cobre. (en línea) 2007. Disponible en: [http://www.procobre.org/procobre/acerca\\_del\\_cobre/pu\\_salud\\_04.html](http://www.procobre.org/procobre/acerca_del_cobre/pu_salud_04.html). Consultado en 2010.
- EPA. 1992. Guide to site and soil description for hazardous waste site characterization. Vol 1: metales.
- Evanylo G. K., A. O. Abaye., C. Dundas., C. E. Zipper., R. Lemus., B. Sukkariyah y J. Rockett. 2008. Herbaceous Vegetation Productivity, Persistence, and Metals Uptake on a Biosolids-Amended Mine Soil, Published in *J. Environ. Qual.* N°34. 1811-1819.
- Fairey D. T. Y I. P. Lefkovitch. 1991. Hard seed content of alfalfa grown in Canada. *Source Canadian Journal of Plant Science* No.71. 437-444.
- Fresquez P. R., R. Aguilar., R. E. Francis y E. F. Aldon. 1999. Heavy metal uptake by blue grama growing in a degraded semiarid soil amended with sewage sludge. *Water, Air, & Soil Pollut.* Volume 57-58, N°1, 903-912.
- Gaete H., M. E. Hidalgo, A. Neaman y G. Ávila. 2010. Evaluación de la toxicidad de cobre en suelos a través de biomarcadores de estrés Oxidativo en *eisenia foetida*. *Quim. Nova.* Vol. 33. No. 3. pp. 566-570
- Gaskin W. J., B. R. Brobst., W. P. Miller y W. E. Tollner. 2003. Long-Term Biosolids Application Effects on Metal Concentrations in Soil and Bermudagrass Forage. *J. Environ. Qual.* N° 32. 146–152.

- Ginocchio R. y J. Narváez. 2002. Importance of the chemical form and type of substrate for copper toxicity in *Noticastrum sericeum* (Less.) Less. ex Phil. *Revista Chilena de Historia Natural*. N° 75. pp. 603-612.
- Gómez-Álvarez a., A. Villalba-Atondo., G. Acosta-Ruíz., M. Castañeda-Olivares y D. Kamp. 2004. Metales pesados en el agua superficial del río san pedro durante los años 1997 Y 1999. *Rev. Int. Contam. Ambient.* Vol. 20. N° 1. pp. 1-8.
- González Bocio J. L., J. M. Carrión Jiménez, O. Y. Gamboa y C. Díaz López. 2008. Contaminación de la bahía de Chetumal por metales Pesados, materia orgánica y nutrientes producidos por Las descargas de aguas residuales municipales. *Caos Conciencia*. N° 1 pp 5-11.
- González-Mata R., E. R. Sosebee., Ch. Wan. 2000. Physiological impacts of biosolids application in desert grasses. *ENVIRON EXP BOT.* N° 48. 139–148.
- González-Fierro A., A. Vázquez-Botello., S. Villanueva-Fragoso y G. Ponce-Vélez. 1994. Presencia de metales en sedimentos recientes y organismos de la laguna Sontecomapan, Veracruz, México. *Hidrobiológica*. Vol. 4. N° 1-2. pp. 35-43.
- González-Mendoza D. y O. Zapata-Pérez 2008 Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Bol. Soc.Bot. Mèx.* N° 82. pp. 53-61.
- Gratao Lupino P., M. Narasimha Vara Prasad., P. F. Cardoso., J. P. Lea y R. Azevedo Antunes. 2005. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals en the environment. *Braz. J. Plant Physiol.* Vol. 17. N° 1. 53-64.
- Hajiboland R., 2005. An evaluation of the efficiency of cultural plants to remove heavy metals from growing médium. *PLANT SOIL ENVIRON.*, Vol 51, N° 4, pp 156–164.

- Hanan Alipi A. M. y J. Mondragón Pichardo. (en línea) 2009. Poaceae = Gramineae *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Griffiths Navajita azul. Disponible en: [http://www.conabio.gob.mx/malezas\\_de\\_mexico/poaceae/bouteloua-gracilis/fichas/ficha.htm#3](http://www.conabio.gob.mx/malezas_de_mexico/poaceae/bouteloua-gracilis/fichas/ficha.htm#3). Identificación y descripción. Consultado el 28/10/10.
- Heichel GH, y N. P. Martin. 1980. Alfalfa. Source Handbook of energy utilization in agriculture No 4. 155-161.
- Henry J. R. (en línea) 2000. An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury. National Network of Environmental Management Studies (NNEMS) Fellow. U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation office Washington, D.C. Disponible en: <http://clu-in.org>. Consultado: 7 septiembre 2010.
- Hernández Xolocotzi E., 1987. Zacates Indígenas. Revista de GEOGRAFIA AGRICOLA. Tomo II. pp. 491-499.
- INE. (en línea) 2009. Disponible en: <http://www.ine.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales>. Consultado 2010.
- Intoxicación por cobre. (En línea) 2010. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002496.htm>. Consultado 2010.
- Khalil-Gardezi A., I. D. Barcelo-Quintal, V. M. Cetina-Alcalá, A. Laure Bussy, J. Pérez-Nietoy M. A. Borja-Salin. 2006. Copper Absorption and Characteristics of *Leucaena leucocephala* Associated with *Glomus* spp. and *Rhizobium* in Polluted Soil of the Lerma River, Mexico. Terra Latinoamericana. N° 24 pp 347-354
- Kos B., H. Grčman., D. Leštan. 2003. Phytoextraction of lead, zinc y cadmium from soil by selected plants. plant soil environ., Vol. 49, N° 12 548–553.

- Kuzovkina J., C. Schulthess., T. Morris., D. Pettinelli y O. Zhivotovsky 2009. Pilot phytoremediation of lead contamination at the Mukluk site, Town of Sprague. Final Report to the Town of Sprague, CT. Department of Plant Science The University of Connecticut Storrs, CT06269. 3-37.
- Leithead, H.L., L. L. Yarlett., y T. N. Shiflett. 1976. 100 native forage grasses in 11 southern states. USDA SCS *Agriculture Handbook No. 389*, Washington, DC.
- Li M. S. y S. X. Yang. 2008. Heavy Metal Contamination in Soils and Phytoaccumulation in a Manganese Mine Wasteland, South China. . *Air, Soil and Water Research* N° 1. 31–4.
- Li Y., D. F. McCrory., J. M. Powell., H. Saam y D. Jackson-Smith. 2005. A Survey of Selected Heavy Metal Concentrations in Wisconsin Dairy Feeds. *J. Dairy Sci.* N° 88, 2911-2922.
- Lou Guerinot M. y D. E. Salt. 2001. Fortified foods and Phytoremediation. Two sides of the same Coin. USA. *Plant physiology*, N° 125.pp 164-167.
- Lou-Guerinot M. y D. Eide. 1999. Zeroing in on zinc uptake in yeast and plants. *Current Opinión in Plant Biology* , N° 2. 244–249.
- Madejon P., J. M. Murillo., T. Marañón., F. Cabrera. yR. López. 2001. Elementos traza en Gramineas afectadas por el vertido tóxico de las minas de Aznalcòllar. *Prod. Prot. Veg.* Vol. 16 N° 3. 429-446.
- Madejon P., J. M. Murillo., T. Marañón., F. Cabrera. yR. López. 2002. Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcollar mine spill (SW Spain). *The Science of the Total Environment* N° 290. 105–120.
- Martinez Salazar A. 2005. Tolerancia de genotipos de *Bouteloua gracilis* al cadmio. Instituto potosino de investigación científica y tecnológica, A. C.
- Meharg A. A. y J. Hartley-Whitaker 2002. Tansley review N° 133 Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist.* N° 154. pp 29-43.

- Mejía Saules T. y P. Dávila Aronda (en línea) 1992. Gramineas útiles de México. Cuadernos 16, ISBN 968-36-2648-3. Disponible en: <http://books.Google.com.mx/books?id=SXSNbiMek&pg=PA7&ots=cOIWos8sHi&d.>, Consultado el 28 de septiembre del 2010.
- Memon A. R., D. Aktoprakligil., A. Özdemir., y A. Vertii. 2001. Heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants. *Turk J. Bot.* N° 25. 111-121.
- Milner M. J. Y L. V. Kochian. 2008. Invited Review. Investigating Heavy-metal Hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a Model System. *Annals of Botany* N° 102. pp3–13.
- Monroy M., F. Díaz-Barriga., I. Razo y L. Carrizales. 2002. Evaluación de la contaminación por arsénico y metales pesados (Pb, Cu, Zn) y análisis de riesgo en salud en villa de la paz-matehuala, s.l.p.
- Navarro-Aviñó J. P., I. Aguilar Alonso., y J. R. López-Moya. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* Vol. 16 N° 2.
- Norma oficial mexicana NOM-021-RECNAT-2000. (en línea) 2002. Establece las especificación de de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. <http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20 Mexicanas% 20vigentes/ NOM-021-RECNAT-2000.pdf>. (Consultado el día 22 de noviembre de 2010).
- Norma oficial mexicana NOM-127-SSA1-1994. (en línea) 2009. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-limites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. <http://www.salud.gob.Mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html> (Consultado el día 20 de Octubre de 2010).

- Proy-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plomo, selenio, talio y vanadio.
- Nwachukwu O. I. y I. D. Pulford. 2009. Soil metal immobilization and ryegrass uptake of lead, copper and zinc as affected by application of organic materials as soil amendments in a short-term greenhouse trial. *Soil Use and Management.*, N° 25. 159–167.
- Ortiz Escobar M. E., N. V. Hue y W. G. Cutler. (en línea) 2010. Recent Developments on Arsenic: Contamination and Remediation M.E. pp1-34.
- Pastor J., M. A. Aparicio., A. Maroto-Gutiérrez. y J. A. Hernández. 2007. Effects of two chelating agents (EDTA and DTPA) on the autochthonous vegetation of a soil polluted with Cu, Zn and Cd. *SCI TOTAL ENVIRON.* N° 378, 114-118.
- Pastor J. y Hernandez A. J., Multi-functional role of grassland systems in theecological restoration of mines, landfills, roadside slopes and agroecosystems. *Options Méditerranèennes.*, series A., N°79 2009. 103-107.
- Perdomo Roldán F. y J. Mondragón Pichardo.(en línea) 2009. Poaceae = Gramineae *Lolium multiflorum* Lam. (= *L. perenne* L. ssp. *multiflorum* (Lam.) Husnot) Raigras criollo. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/lolium-multiflorum/fichas/ficha.htm#3>. Identificación y descripción. Consultado el 28/10/10.
- Pernia B., A. De Sousa., R. Reyes y M. Castrillo.2008. Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Siverciencia* VOL. 33 N° 2.
- Pérez D. El Cadmio en el organismo. (en línea) 2010. Disponible en: [http://www.Cuida\\_tu\\_salud\\_condiane.com/CTS/content/el-cadmio-en-el-organismo](http://www.Cuida_tu_salud_condiane.com/CTS/content/el-cadmio-en-el-organismo). Consultado en 2010

- Petrucci R. H., W. S. Harwood., G. E. Herring., y J. D. Madura. (en línea) 2007., General Chemistry : Principles and Modern Applications, Ninth Edition. Macmillan Publishing Company. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Prentice Hall, disponible en: [http://chemwiki.ucdavis.edu/Inorganic\\_Chemistry/Descriptive\\_Chemistry/Chem\\_2C\\_Transition\\_Metals\\_and\\_Coordination\\_Complexes/Zinc, Cadmium, and Mercury.](http://chemwiki.ucdavis.edu/Inorganic_Chemistry/Descriptive_Chemistry/Chem_2C_Transition_Metals_and_Coordination_Complexes/Zinc,_Cadmium,_and_Mercury.), consultado el 27 de September del 2010).
- Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. reviews in Advance . USA. Annu. Rev. Plant. Biol. N° 56. pp 15-39.
- Pivetz B. E. 2001. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Environmental Agency Protection. Pp.1-22.
- Prabha K. P. y L. Y. Li. 2007. Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants. 2007. Water Air Soil Pollut. N° 184. 105–126.
- Prieto Méndez J., C. A. González Ramírez., A. D. Román Gutiérrez., y F. Prieto García F. 2009. CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA. REVIEW. Tropical and Subtropical Agroecosystems. N°10. 29 – 44.
- Priya, G. V., S. K. Ouki., R. Van Herwijnen y T. Hutchings. 2008. Effects of amended on mobility and uptake of arsenic by rye grass in contaminated soil. Chemosphere N° 72. pp 1056-1061.
- Puga S., M. Sosa, T. Lebgue, C. Quintana y A. Campos. 2006. Heavy metals pollution in soils damaged by mining industry. Ecología Aplicada, Vol.5 N° 1,2,pp 149-155.

- Ramírez Vargas R. Arsénico en el agua subterránea de la Comarca Lagunera ¿Es realmente un problema grave?. (en línea) 2010. Disponible en: [http://www.lag.uia.mx/buenaVal/b7arsenico\\_agua46](http://www.lag.uia.mx/buenaVal/b7arsenico_agua46). Pdf. Consultado 2010.
- Ramos-Bello R., L. J. Cajuste, D. Flores-Román, N. E. García-Calderón. 2001. Heavy metals, salts and sodium in chinampa soils in México. *Agrociencia*. N° 35. pp 385-395.
- Ramos González j. L., j. M. Espinoza calzada y f. J. Robles Escobedo. 2000. Características descriptivas del ballico anual y perenne en las zonastempladas de México. Secretaria de agricultura, ganadería y desarrollo rural., instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Y centro de investigación regional norte centro. Folleto técnico n° 16.
- Raven P. H., R. F. Evert., y S. E. Eichhorn. 1992. *BIOLOGIA DE LAS PLANTAS*. I.S.B.N.-84-241-1842-X. Tomo II. España. pp. 1-250.
- Reichman S. M. (en línea) 2000. The Responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on Copper, Manganese and Zinc. Ameer Environmental Excellence Awards the Literature Review Award. N° 14. disponible en: [www.ameef.com.au](http://www.ameef.com.au). Consultado el 06 de octubre del 2010.
- Resumen de salud publica-Cobre. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). (en línea) 2004. Disponible en: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs132.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs132.html). consultado en 2010.
- Rodríguez-Serrano M., N. Martínez-de la Casa., M. C. Romero-Puertas., L. A. del Río y L. M. Sandalio. 2008. Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas Vol. 17 N°3*. 139-146.
- Roongtanakiat N., S. Tangruangkiat y R. Mesta. 2007. Utilization of Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides*) for Removal of Heavy Metals from Industrial Wastewaters. *Science Asia*. N° 33. 397-403.
- Sampanpanish P., S. Khaodhiar, W. Pongsapich y E. Khand. 2007. Alternative for Chromium Removal : Phytoremediation and Biosorption with Weed Plant Species in Thailand. *Science Asia*. N° 33. 353-362.

- Selvaraj T. y P. Chellappan. 2006. ARBUSCULAR MYCORRHIZAE: A DIVERSE PERSONALITY. *Journal of Central European Agricultura.*, Vol. 7., N° 2. 349-358.
- Sharma S. S. y K.-J. Dietz. 2006. REVIEW ARTICLE. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. EXP. BOT.* Vol. 57. No. 4. pp. 711–726.
- Singh A, Eapen S. y M. H. Fulekar. 2009. Potential of *Medicago sativa* for uptake of cadmium from contaminated environment. *Rom. Biotechnol. Lett.*, Vol. 14, No. 1, 4164-4169.
- Torri S. y R. Lavado. 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils and correlation with soil chemical speciation. *Journal of Hazardous Materials.*, N° 166., 1459–1465.
- Tymowski de C. J. 1984. 50 plantassilvestres nutritivas. Paris. I.S.B.N.-84-7166-935-8. N° 1. pp. 1- 159.
- USDA-ARS. 2006 .Laboratory Manual for Nutrient Management & Mineral Nutrition Program. Agricultural Research Service, Soil Plant Nutrient Research Unit. Fort Collins, CO. USA. 45 p.
- USEPA (United State Environmental Agency). 2001. Residential lead hazard standards-TSCA section 403: office of pollution prevention and toxics. Environmental protection Agency, U.S.
- Valdés Perezgasga F. y V. M. Cabrera Morelos.(en línea) 1999. LA CONTAMINACION POR METALES PESADOS EN TORREON, COAHUILA, MEXICO. Disponible en: <http://www.texascenter.org/tcps/btep/breports.htm>. Consultado el 16/10/10.

- Vázquez-Sauceda M. L., G. Aguirre-Guzmán, J. G. Sánchez-Martínez, R. Perez-Castañeda y J. Rábago Castro. 2006. Contenido de metales pesados en agua, sedimentos y ostiones de la Laguna de San Andrés, en Tamaulipas, México. Disponible en
- Velasco Trejo J. A., D. A. de la Rosa Pèrez, G. Solòrzano Ochoa y T. L. VolkeSepùlveda. 2004. Primer informe del proyecto: Evaluacion de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. SEMARNAT-INE.
- White K. M. 1991. Blue grama response to Zn source and rates. *Journal of Range Management* Vol. 44., N° 1. 48-51.
- Wikipedia. (en línea) 2010. Torreon. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Torre%C3%B3n>. consultado 2010.
- Xiaoe Yang, Ying Feng, Zhenli He, y P. J. Stoffella. 2005. REVIEW Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 18 (2005) 339–35. ELSEVIER.
- Yan-de Jing, Zhen-li He, y Xiao-e Yang. (en línea) 2006. Review Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science*. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1810380/>. Consultado el 01 de octubre del 2010.
- Yarto M. (en línea) 2007. Disponible en: <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/467/yarto.html>. Consultado 2010.
- Yoon J., X.Cao., Q. Zhou., y Q. L. Ma. 2006 Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci. Total Environ.* N° 368. 456-464.

## VIII. APÉNDICE.

Cuadro 17. Resultado de los pesos de las plantas durante el periodo de experimentación.

<b>Peso seco de la planta alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L), zacate ballico (<i>Lolium perenne</i> L.), zacate navajita (<i>Bouteloua grasillis</i> L.)/periodo.</b>				
	<b>periodo 17-06-10 al 17-07-10</b>			
<b>tratamiento</b>	<b>raíz (gr)</b>	<b>tallo (gr)</b>	<b>hoja (gr)</b>	<b>total (gr)</b>
<b>T2 R II</b>	1	0.8	4.2	6
<b>T3 RIII</b>	1.5	No presentes	1.7	1.7
<b>T4 RVIII</b>	0.6	No presentes	1	7.7
	<b>periodo 17-07-10 al 17-08-10</b>			
	<b>raíz (gr)</b>	<b>tallo (gr)</b>	<b>hoja (gr)</b>	<b>total (gr)</b>
<b>T2 R IX</b>	0.4	2.2	1.6	4.2
<b>T3 RII</b>	0.7	0.5	1.4	2.6
<b>T4 RI</b>	0.1	0.2	0.3	6.8
	<b>periodo 17-08-10 al 17-09-10</b>			
	<b>raíz (gr)</b>	<b>tallo (gr)</b>	<b>hoja (gr)</b>	<b>total (gr)</b>
<b>T3 RVII</b>	0.52	0.3	1.2	2.02
<b>T4 RIV</b>	0.2	0.4	1.7	2.3

Se observa que en relación con la biomasa los pesos secos son relativamente bajos, esto puede deberse al bajo contenido de materia orgánica en el suelo. Aunque se evidencia que la alfalfa presenta mayor peso en sus primeros días, posterior a los 60 días se disminuye el rendimiento de su materia seca.

El mayor peso se presenta en las hojas de la alfalfa en sus primeros días, mas sin embargo este no se relaciona de forma relativa con un contenido de metales pesados no mayor a  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  en los tejidos de las hojas de la alfalfa.

En relación a los zacates, su masa no es significativamente mayor a la de la alfalfa. Pero los pesos secos de la planta se mantienen constantes, probablemente se deba a los tiempos de siembra y el bajo contenido de materia orgánica. No se descarta una relación con los contenidos de metales

pesados, la cual se demostró con el análisis de metales pesados, donde en tan solo 1 gramo de materia seca de cada especie se encontraron relativamente altos contenidos de metales pesados.

**Análisis estadístico de regresión lineal y mejor modelo de absorción para alfalfa.**

Los resultados del análisis de regresión para alfalfa indica pocos errores experimentales ( $P > 0.05$ ). El coeficiente de correlación indica que el 82 % del plomo absorbido en alfalfa se debe al efecto del Cu, Cd, y As presentes en los tejidos de la planta Cuadro 18. El mejor modelo es el que considera al plomo como variable dependiente con mayor tendencia de absorber plomo con efectos dañinos para la planta.

**Cuadro 18. Resultado del análisis estadístico y mejor modelo de predicción para alfalfa.**

Variable	GL	Valor de F	Prov. >F	r 2	CV %
<b>Alfalfa-metal pesado</b>	3	4.704	0.1178	0.82	67.76 %
	3				
	6				
Variable	GL	Parámetros estimados	Prov.>T		
<b>Intercepto</b>	1	-2364.34	0.2118		
<b>CuT2</b>	1	5.12	0.418		
<b>CdT2</b>	1	-3.70	0.5476		
<b>AsT2</b>	1	4.62	0.2796		

Los resultados estadísticos muestran un mínimo error experimental en la absorción de metales pesados por zacate ballico ( $P > 0.05$ ), el coeficiente de correlación indica que el 69 % de la absorción del plomo depende de los otros metales pesados en los tejidos del zacate. El mejor modelo es el que consideró al plomo como variable dependiente en zacate ballico ( $P = 0.083$ ) (Cuadro 19).

**Cuadro 19. Resultados que establecen el mejor modelo de predicción para zacate ballico.**

Variable	GL	Valor de F	Prov. >F	r 2	CV %
<b>Z. ballico-metal pesado</b>	3	2.331	0.2526	0.6997	73.15 %
<b>Error</b>	3				
<b>C. Total</b>	6				
Variable	GL	Parámetros estimados	Prov.>T		
<b>Intercepto</b>	1	77.77	0.77		
<b>CuT3</b>	1	1.02	0.083		
<b>CdT3</b>	1	1.16	0.41		
<b>AsT3</b>	1	1.72	0.52		

**Relación del Cu vs Pb en zacate ballico.**

Los resultados muestran que el coeficiente de correlación indica que el 55 % de la absorción del plomo pudiera realizarse con la presencia de mayores contenidos de cobre en suelo (P=0.05) Cuadro 20.

**Cuadro 20. Resultado que establece la predeterminación a la mínima absorción del Pb en zacate Ballico por el Cu.**

Referido	GL	valor de F	P> F	R2	C.V.
<b>modelo</b>	1	6.180	0.0554	0.55	69.15 %
<b>Error</b>	5				
<b>C. total</b>	6				
variable	GL	Parámetro estimado	P>T		
<b>intercepto</b>	1	-34.16	0.8565		
<b>CUT3</b>	1	0.893	0.0554		

Los resultados del análisis estadístico en el zacate navajita muestran mucha significancia (0.97) y mínimos errores experimentales (P<0.01). Según el modelo si la planta absorbe el cadmio y arsénico en cantidades mínimas se presenta un efecto positivo (P<0.01). El cobre afecta positivamente el contenido de plomo, cadmio y arsénico (P>0.05) (Cuadro 21).

**Cuadro 21. Resultados que establece la regresión del experimento y el mejor modelo de predicción para zacate navajita.**

Variable	GL	Valor de F	Prov. >F	r 2	CV %
Z. navajita-metal pesado	3	34.29	0.0087	0.97	24.77 %
Error	3				
C. Total.	6				
Variable	GL	Parámetros estimados	Prov.>T		
Intercepto	1	-12.9	0.8918		
CuT4	1	0.3339	0.3454		
CdT4	1	3.7	0.0075		
AsT4	1	1.62	0.0089		

### Relación del contenido de As y Cd vs Pb en zacate navajita.

Los resultados estadísticos muestran mínimo error experimental con gran significancia al absorber plomo dependiendo de As y Cd en los tejidos de la planta. El mejor modelo es el que considera al As y Cd como variables que afectan el plomo en la planta ( $P < 0.01$ ). Si se mantienen los contenidos de cadmio y arsénico bajos ( $P < 0.01$ ) la planta absorberá el plomo en sus tejidos con un efecto negativo ( $P \geq 0.05$ ) Cuadro 22.

**Cuadro 22. Resultado del modelo que relaciona al Pb con los contenidos de Cd y As en planta.**

Referido	GL	suma de cuadrados	cuadrado medio	valor de F	P> F	C.V.	R2
modelo	2	791460.4	395730.2	47.85	<b>0.0016</b>	<b>25.53%</b>	<b>0.9599</b>
Error	4	33074.44	8268.61				
C. total	6	824534.85					
variable	GL	Parámetro estimado	P>T				
intercepto	1	-89.14	0.1931				
CDT4	1	3.19	0.0009				
AST4	1	1.67	0.0034				

**Cuadro 9. Resultado de la concentración final de metales pesados en el suelo al tercer periodo.**

<b>Concentración final al tercer periodo</b>				
Elemento	Testigo (mg Kg <sup>-1</sup> )	Alfalfa (mg Kg <sup>-1</sup> )	Z. Ballico (mg Kg <sup>-1</sup> )	Z. Navajita (mg Kg <sup>-1</sup> )
Pb	3860	2200	3947	3955
Cu	1215	815	635	680
Cd	397	390	392	392
As	25	25	25	25

Como se observa los contenidos de plomo en suelo son más difíciles de absorber por las plantas en el tercer periodo, pero en este periodo las plantas establecidas eran pocas. Sin embargo es más estable la reducción de los contenidos de Cu, Cd y As en suelo, esto puede ser por el factor de biodisponibilidad del Cu, Cd y As, mientras que el plomo en los últimos periodos no se encuentra muy biodisponible.