

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
DIVISIÓN DE INGENIERIA**



**Uso de Ácidos Fúlvicos y Girasol Ornamental en la Remediación de un Calcisol Contaminado con Plomo.**

Por :

**HUGO RUBILI ROBLERO RAMÍREZ**

**T E S I S**

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

Ingeniero Agrícola y Ambiental

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre del 2006

## INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
<b>Agradecimientos</b> .....	I
<b>Dedicatorias.....</b> .....	II
<b>Índice de Cuadros</b> .....	V
<b>Índice de Figuras</b> .....	VI
<b>Introducción</b> .....	1
Objetivos .....	3
Hipótesis .....	3
<b>Revisión de Literatura</b> .....	4
Efecto De Los Metales Pesados En Los Suelos.....	4
El plomo.....	6
Fuentes de emisión de plomo.....	7
Remediación de Suelos por Métodos Biológicos.....	9
Biorremediación .....	9
Fitorremediación .....	9
Plantas Hiperacumuladoras de Metales Pesados.....	11
Categorías de la Fitorremediación.....	16
Características Botánicas del Girasol.....	18
Requerimientos Edafoclimaticos del Girasol.....	18
Particularidades del Cultivo.....	19
Agentes Quelatantes.....	21
Sustancias Húmicas.....	21

Propiedades de los Ácidos Fúlvicos.....	22
Efecto de los Ácidos Fúlvicos en el Crecimiento Vegetal.....	23
<b>Materiales y Métodos</b> .....	25
Características Generales del Área.....	25
Metodología.....	25
<b>Resultados</b> .....	29
<b>Discusión</b> .....	54
<b>Conclusión</b> .....	56
<b>Literatura Citada</b> .....	57

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Intervalos de los límites normales y máximos permitidos de los metales pesados en los suelos (Kloke, 1980) .....	5
Cuadro 2. Contenido de plomo de los 30 cm superficiales, de ocho áreas del horizonte Ap de un calcisol, al iniciar el experimento.....	26
Cuadro 3. Otras características determinadas al suelo empleado al inicio del experimento.....	26
Cuadro 4. Cantidad de agente quelatante usado para remediar un suelo contaminado con plomo, junto con girasol ornamental cv. “Sunbrigh”.....	27
Cuadro 5 . Resultados de las determinaciones para la caracterización del suelo.....	29
Cuadro 6. Cantidades de plomo total determinadas en dos profundidades de suelo, por vía húmeda (PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004).....	29
Cuadro 7. Acidez total (AT), grupos funcionales libres carboxilos (-COOH) y grupos funcionales libres oxidrilos fenólicos (-OH) de diversos compuestos orgánicos, adicionados a un suelo contaminado con plomo.....	30
Cuadro 8. Análisis de varianza (ANVA) para la variable altura de plantas del cv. “Sunbrigh” girasol ornamental en suelo contaminado con plomo.....	31
Cuadro 9. Análisis de varianza (ANVA) para el diámetro de tallos de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.....	33
Cuadro 10. Análisis de varianza (ANVA) para la variable diámetro de capítulos del cv. “Sunbrigh” girasol ornamental en suelo contaminado con plomo.....	35
Cuadro 11. Análisis de varianza (ANVA) de materia seca de follaje del cv. “Sunbrigh” de girasol ornamental al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	37
Cuadro 12. Análisis de varianza (ANVA) para peso de materia seca de tallos al final del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.....	39..
Cuadro 13. Análisis de varianza (ANVA) para el peso seco de capítulos del cv. “Sunbrigh” girasol ornamental cultivado en un suelo contaminado con plomo.....	41

Cuadro14. Plomo total acumulado en tallos y hojas de cada planta a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.....	44
Cuadro 15. Plomo en suelo a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”.....	44
Cuadro 16. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de plomo en tejido vegetal de follaje del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.....	45
Cuadro 17. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”, cultivado en un suelo contaminado con plomo.....	47
Cuadro 18. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	49
Cuadro 19. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de Zn en tallo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	52
Cuadro 20. Plomo y Cinc en suelo al final de ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”.....	54

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. categorías de la fitorremediación de suelos contaminados.....	16
Figura 2. Fenología de la planta del girasol.....	20
Figura 3. Comparación de medias de la altura de plantas de girasol ornamental cv. “sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.....	31
Figura 4. Altura de planta de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” a la mitad del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo.....	32
Figura 5. Altura de plantas de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	33
Figura 6. Prueba de medias de Tukey para el diámetro de tallos del cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.....	34
Figura 7. Diámetro de tallos en (cm) de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	35
Figura 8. Prueba de medias de Tukey para el diámetro de capítulos de girasol ornamental, en un suelo contaminado con plomo.....	36.
Figura 9. Diámetro de capítulos en cm, obtenidos de los tratamientos establecidos en el cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.....	36
Figura 10. Prueba de medias de Tukey para el peso seco de hojas al final del ciclo de cultivo (PSHFC).....	38
Figura 11. Peso de materia seca de hojas en gramos del cv. “Sunbrigh” de girasol ornamental, al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	38.
Figura 12. Prueba de medias de Tukey en el peso seco de tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	39
Figura 13. Peso de la materia seca de tallos en gramos del cv. “Sunbrigh” de girasol ornamental, cultivado en un suelo contaminado con plomo.....	40
Figura 14. peso de materia seca en gramos de tallos y hojas (vástago) a la mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.....	41

Figura 15. Prueba de medias de Tukey para el peso seco de capítulos de girasol ornamental cultivado en suelos contaminados con plomo.....	42
Figura 16. Peso seco de capítulos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en gramos, cultivado en suelos contaminados con plomo.....	42
Figura 17. Promedio de acumulación total de plomo por planta en tallos y hojas (vástago) a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.....	43
Figura 18. Prueba de medias de Tukey para las concentraciones de plomo en las hojas del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.....	45
Figura 19. Concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de plomo en hojas de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	46
Figura 20. Acumulación de plomo total en hojas (mg) al final del ciclo del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental sembrado en un suelo contaminado con plomo.....	46
Figura 21. Prueba de medias de Tukey para la concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”, en un suelo contaminado con plomo.....	48
Figura 22. Concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de cinc (Zn) en hojas de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.....	49
Figura 23. Prueba de medias de Tukey para la concentración de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo.....	50
Figura 24. concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo.....	50
Figura 25. Acumulación de plomo total en tallos (mg) al final del ciclo del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental sembrado en un suelo contaminado con plomo.....	51
Figura 26. Medias de Tukey para la concentración de Zn en tallo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con Pb.....	52
Figura 27. Concentración de Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo.....	53

## INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas mundiales más señalados por la sociedad es la progresiva degradación de los recursos naturales causada, en parte, por la gran diversidad de contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos, tanto en la atmósfera como en el agua y suelo, procedentes de diversos procesos naturales y antropogénicos, generando un irremediable deterioro en el ambiente.

Entre los contaminantes inorgánicos más nocivos para los seres vivos están los metales pesados, y entre ellos el plomo (Pb), el cual provoca la pérdida irreversible de los recursos naturales debido a que no es biodegradable. Las fuentes de emisión de plomo al ambiente son múltiples e incluyen las fundidoras, las fábricas de baterías, algunas pinturas, la loza de barro vidriado cocida a baja temperatura y las gasolinas.

La presencia de metales pesados en los suelos agrícolas se debe al uso inadecuado y prolongado de agroquímicos, incluyendo fertilizantes y pesticidas. Los fertilizantes fosforados contienen plomo, zinc, arsénico y cadmio, porque la roca fosfórica de donde los elaboran, los contiene y el uso de ciertos plaguicidas ha contribuido a aumentar los niveles de plomo, arsénico, mercurio y cobre, ya que algunos poseen hasta más del 25 por ciento de alguno de estos elementos (Bernal, 1997).

Actualmente existen estudios tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de extraer y acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación”. Es decir, la “fitorremediación”, es una técnica que consiste en aprovechar la habilidad de las plantas que están cultivadas en un suelo contaminado y pueden ser cosechadas, incineradas o compostadas (Boye, 2002).

Los suelos agrícolas del noreste de México se caracterizan por poseer pH de 7.8 a 8.7, menos del 1 % de materia orgánica, arcillas de tipo illitas y montmorillonitas y más del 25 por ciento de carbonatos de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (FAO/UNESCO, 1994), lo cual provoca la fijación de iones metálicos. En el caso del Pb es poco soluble o insoluble en suelos con estas características, por lo que la recuperación de estos suelos con esta técnica, es uno de los problemas más difíciles de resolver por los especialistas en remediación de suelos.

En la fitoextracción, se han empleado ciertos agentes quelatantes (compuestos orgánicos ligantes sintéticos de cationes), los cuales facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el crecimiento de las plantas (Raskin *et al.*, 1997). Así, por ejemplo, el EDTA (ácido ethilenedraminetetraacético), es particularmente efectivo ya que facilita la fitoextracción de cadmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn) a la adición de 10 mmol kg<sup>-1</sup> de un suelo contaminado con 1200 mg kg<sup>-1</sup> de Pb, esto resultó con una acumulación de 1.6 por ciento en tallos de *B. juncea* y el agente quelatante sintético fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas (Blaylock *et al.*, 1997).

Recientemente se ha encontrado que los ácidos húmicos (AH) y los ácidos fúlvicos (AF), ambos procedentes de la materia orgánica, pueden complejar y/o quelatar cationes, debido a su alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados. En los AH dominan los grupos funcionales carboxilos y para los AF, los oxhidrilos fenólicos, porque más del 80 % de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por éstos grupos (Schnitzer, 2000), sin embargo, contrario a lo anterior encontró López (2002), al analizar compuestos húmicos extraídos de compostas.

Evangelou *et al.*, (2004), emplearon DTPA con hierro (DTPA-Fe), ácidos húmicos obtenidos de leonardita como agentes quelatantes y plantas de tabaco (*N. Tabacum* SR-1), en laboratorio, para fitoextraer cadmio (Cd) de un suelo contaminado y concluyen que los ácidos húmicos tienen un efecto positivo en la biohabilidad del metal pesado y aceleran la fitoextracción de éste. Además, los ácidos no tienen efectos negativos como el DTPA-Fe, al emplearse como agentes quelatantes en el crecimiento de las plantas de tabaco. Sin embargo, debido al gran esfuerzo realizado para obtener los ácidos húmicos en grandes cantidades para poder emplearlos en la fitoextracción del Cd, hace lento el proceso.

Los agentes quelatantes sintéticos son costosos, difíciles de conseguir y requieren ser manejados por personal técnico, por lo que se hace necesaria la búsqueda de agentes quelatantes naturales y económicos, además, que sean correctivas y no afecten a la naturaleza. Debido a lo anterior, es necesario reducir los niveles de contaminación y minimizar los elevados costos de restauración de suelos, lo que representa un enorme reto para la humanidad.

## **OBJETIVO**

Determinar la fitoextracción de plomo de un calcisol, con el uso de ácidos fúlvicos extraídos de composta elaborada a base de gallinaza y girasol ornamental.

## **HIPÓTESIS**

Con la aplicación de ácidos fúlvicos (AF) al suelo, aumenta la capacidad hiperacumuladora del girasol ornamental para remediar un suelo contaminado con plomo.

## **REVISIÓN DE LITERATURA.**

Los metales pesados son elementos con elevados pesos atómicos, superiores a 44 y una densidad superior a  $5 \text{ gr cm}^{-3}$ , excluyendo a los grupos Alcalino y Alcalinotérreo.

Aunque algunos son imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de los organismos, los denominados esenciales como cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, vanadio y estroncio, en cantidades excesivas son perjudiciales e incluso letales para los seres vivos. Los metales pesados no esenciales comúnmente implicados en problemas de contaminación de las aguas subterráneas son: cromo, cadmio, mercurio, plomo, arsénico y antimonio (Kennish, 1992).

### **Efecto De Los Metales Pesados En Los Suelos**

Los metales pesados son elementos químicos, presentes en todo tipo de suelo y sus niveles de abundancia se reporta en porcentajes y partes por millón. Cuando el nivel de su contenido en el suelo es por abajo de los límites permitidos presenta un efecto inocuo en la vegetación y en las poblaciones microbianas. Cuando el suelo presenta niveles mayores a los límites permitidos de estos elementos, se provoca la contaminación de suelos, en este caso se afecta a largo plazo a las plantas y a los microorganismos. Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanzan niveles que rebasan los máximos permitidos se generan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal y el desarrollo de las plantas, lo que a su vez causa un disturbio funcional en otros componentes del ambiente, así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo, etc. (Martín, 2000; Kabata, 1995).

Cuadro 1. Intervalos de los límites normales y máximos permitidos de los metales pesados en los suelos (Kloke, 1980).

Elementos Químicos	Intervalo de contenido normal (ppm).	Límites máximos permitidos (ppm).
Cadmio	0.1 - 1.0	3.0
Cobalto	1 - 10	50
Cromo	2 - 50	100
Cobre	1 - 20	100
Níquel	2- 5	50
Plomo	0.1 - 20	100
Cinc	3 - 50	300

En el suelo, los metales pesados están presentes como iones libres, compuestos metálicos solubles, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos. Su acción directa sobre los seres vivos ocurre a través del bloqueo de las actividades biológicas, es decir, la inactivación enzimática por la formación de enlaces entre el metal y los grupos -SH (sulfhidrilos) de las proteínas, causando daños irreversibles en los diferentes organismos. Para que los metales pesados puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, éstos deben encontrarse disponibles para ser captados por éste, es decir que el metal debe estar biodisponible. El concepto de biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones fisicoquímicas del ambiente, que determinan la especiación y por lo tanto la concentración de metal libre y lábil. Por ello es fundamental al determinar el grado de contaminación por metales pesados de un ambiente, conocer su biodisponibilidad, es decir, la concentración de metal libre presente en la muestra (Lloyd y Lovley, 2001).

Aproximadamente en un 10% de los metales se encuentran como contenido nativo pertenecientes a materiales de algunos suelos, pero más del 90% llegan al suelo por deposiciones atmosféricas secas y húmedas y como resultado de algunas prácticas agronómicas (Adriano, 1990). Algunos de estos metales como Cr, Cu, Co y Mo, son

elementos traza esenciales para animales, microorganismos y plantas, mientras que otros como el Pb, Cd, Zn, no lo son; sin embargo en altas concentraciones todos ellos son considerados tóxicos. Su biodisponibilidad y toxicidad a microorganismos incluyendo hongos micorrízicos, plantas y animales son influidos por diversos factores particularmente pH, temperatura, potencial redox, capacidad de intercambio catiónico de la fase sólida y competencia entre iones (Leyval *et al.*, 1994; Schmit y Sticher, 1991).

Estos contaminantes pueden alcanzar niveles de concentración que provocan efectos negativos en las propiedades físicas, químicas y biológicas como: reducción del contenido de materia orgánica, disminución de nutrientes, variación del pH generando suelos ácidos, amplias fluctuaciones en la temperatura, efectos adversos en el número, diversidad y actividad en los microorganismos de la rizósfera. También dificultan el crecimiento de la cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, erosión del suelo, y la dispersión de los contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes y como consecuencia aumenta la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, afectando su desarrollo (Zhang *et al.*, 2000; Cabrera *et al.*, 1999).

### El Plomo

El plomo (Pb) es un metal pesado, azulado, suave y maleable, usado en varios procesos industriales. El plomo existe naturalmente en la corteza terrestre, de donde es extraído y procesado para usos diversos. Cuando es ingerido, inhalado o absorbido por la piel, resulta ser altamente tóxico para los seres vivos en general y para los humanos en particular. Sobre todo en los sistemas endocrino, cardiovascular, respiratorio, inmunológico, neurológico, y gastrointestinal además de poder afectar la piel y los riñones. El plomo no es biodegradable y persiste en el suelo, en el aire, en el agua y en los hogares. Nunca desaparece sino que se acumula en los sitios en los que se deposita y puede llegar a envenenar a generaciones de niños y adultos a menos que sea retirado (Valdés, 1999).

Se utilizan una gran variedad de compuestos de plomo, como los silicatos, los carbonatos y sales de ácidos orgánicos, como estabilizadores contra el calor y la luz para los plásticos de cloruro de polivinilo. Se usan silicatos de plomo para la fabricación de frituras, de vidrio y de cerámica, las que resultan útiles para introducir plomo en los acabados del vidrio y de la

cerámica. El azuro de plomo,  $\text{Pb}(\text{N}_3)_2$ , es el detonador estándar para los explosivos. Los arsenatos de plomo se emplean en grandes cantidades como insecticidas para la protección de los cultivos y para ahuyentar insectos molestos como lo son cucarachas mosquitos y otros animales que posean un exoesqueleto. El litargirio (óxido de plomo) se emplea mucho para mejorar las propiedades magnéticas de los imanes de cerámica de ferrita de bario.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Plomo>

En México, el plomo orgánico y el inorgánico se utilizan en diversos procesos industriales que van desde los muy artesanales (cerámica vidriada), hasta los que implican la utilización de sistemas sumamente tecnificados y automatizados (armadoras de autos) (Lacasaña, 1996).

#### Fuentes de Emisión de Plomo

Las fuentes de contaminación de plomo son múltiples, incluyen a los procesos de combustión de la gasolina, los procesos de industrialización (fundición y refinación) del Pb, las actividades de minería y las fabricas de todo tipo de baterías y pinturas (Joint Program FAO/OMS, 1995).

La combustión de la gasolina libera a la atmósfera partículas finas de hidrocarburos, haluros, óxidos y carbonatos de plomo (Pb), las cuales dependiendo de su tamaño pueden penetrar con facilidad al aparato respiratorio y ser absorbidas por el organismo (Fuentes y Soto-Mora, 1993). Los valores permisibles por la Norma Mexicana para el Pb atmosférico son de  $1.5 \text{ mg m}^{-3}$ , aunque en ciudades con gran actividad industrial y vehicular como el D.F., las concentraciones de Pb en el medio ambiente pueden ser mayores a las permisibles (Avediz, 1984; Romiew *et al.*, 1994).

La exposición al plomo puede ocurrir al respirar aire o polvo en el lugar de trabajo, o al consumir alimentos o agua contaminados. Los niños pueden exponerse al ingerir pedazos de pintura seca que contiene plomo o al jugar en suelo contaminado (ATSDR). 2005.

Las principales vías de absorción del Pb son el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. El grado de absorción depende de varios factores entre los que se encuentran: el tamaño de las

partículas, forma química, la solubilidad, el estado nutricional y la edad del sujeto expuesto (Conrad y Barton, 1978; Schweinsberg y Ven Karsa, 1990).

El plomo es un elemento que no tiene ninguna función fisiológica conocida en el organismo humano; por el contrario, existen muchas evidencias epidemiológicas que demuestran que los niveles comunes de exposición al plomo en la población mundial ocasionan efectos adversos en la salud (National Academy Press, 1993). Hardman *et al.*, (1996) mencionan que el plomo (Pb) es un agente tóxico que se acumula de manera progresiva en el organismo ocasionando daños en diferentes órganos y sistemas, produciendo así una variedad de signos y síntomas que dependen del tipo de intoxicación.

Como sucede con muchos tóxicos ambientales, los niños en edad temprana son mas susceptibles que los adultos debido a que tienden a ingerir y a absorber mas plomo, en relación con su talla, y tomando en cuenta, por otro lado, la velocidad del desarrollo cerebral a esa edad (Landrigan *et al.*, 1998).

En la mayoría de los niños intoxicados por plomo los impactos son subclínicos, es decir, no ocasionan signos o síntomas evidentes al efectuar una revisión clínica de rutina. Sin embargo, los estudios a fondo sobre poblaciones infantiles muestran que la capacidad cognitiva, la conducta y el crecimiento de esos niños se ven mas afectados, en promedio, cuando se les compara con aquellos que han estado menos expuesto al plomo. Estos efectos del plomo sobre la salud se han replicado en diversas poblaciones en múltiples estudios, y los resultados de la mayoría de éstos en animales son congruentes con los llevados a cabo en humanos. La medición de los niveles de plomo en la sangre a sido ampliamente validada como un indicador de riesgo para la salud. El plomo trastorna fundamentalmente los procesos bioquímicos, de casi todas las células y sistemas del organismo. Se une a las proteínas, particularmente a aquellas de los grupos del sulfhídrico, de tal manera que puede alterar su estructura y función, o bien competir con otros metales en los sitios de enlace (Goering, 1993).

Puesto que el plomo es químicamente similar al calcio, interfiere en diversos procesos dependientes de éste. Activa la proteína C quinasa (PCQ), que es una enzima dependiente del

calcio vinculada con el crecimiento y la diferenciación celular, la conservación de la barrera hematoencefálica, y la potenciación a largo plazo que se sospecha tiene que ver con la memoria (Markovac, 1988; Goldstein, 1996). Por otro lado, la placenta es un órgano accesible por el cual el Pb puede atravesar de la madre al feto desde las primeras semanas de la gestación (Chang y Wade, 1980). La alta sensibilidad del feto a los efectos tóxicos del Pb se debe a la inmadurez de la barrera hematoencefálica y la susceptibilidad del desarrollo del sistema nervioso durante la prematura modificación y estructura del circuito neuronal, la habilidad del Pb para competir con el  $\text{Ca}^{++}$  y activar las proteínas quinazas puede alterar la conducta de las células endoteliales en el cerebro inmaduro y alterar la barrera (Bressler y Goldstein, 1991; Bressler *et al.*, 1999).

## Remediación de Suelos por Métodos Biológicos

### Biorremediación

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

### Fitorremediación

El concepto de usar plantas para limpiar suelos contaminados no es nuevo, desde hace 300 años las plantas fueron propuestas para el uso en el tratamiento de aguas residuales (Hartman, 1975). En Rusia en los años 60's se realizaron investigaciones utilizando plantas para recuperar suelos contaminados con radionucleótidos. Existen reportes sobre el empleo de plantas acuáticas en aguas contaminadas con plomo, cobre, cadmio, hierro y mercurio. La remediación de suelos con acumulación de metales pesados utilizando plantas, es también ampliamente reconocida (Ernst, 2000).

Según Chaney, 1997 la fitorremediación es una estrategia que se utiliza en la remediación de suelos contaminados. Este proceso de descontaminación involucra el empleo de plantas que pueden remover, transferir, estabilizar, descomponer y/o degradar contaminantes de suelo, sedimentos y agua, como solventes, plaguicidas, hidrocarburos poliaromáticos, metales pesados, explosivos, elementos radiactivos, fertilizantes, para hacerlos más biodisponibles para la planta (McGrath *et al.*, 2001; Macek *et al.*, 2000; Raskin *et al.*, 1994).

Esta técnica se encuentra todavía en su etapa inicial de investigación y de desarrollo, el número de pruebas de campo realizadas hasta la fecha es pequeña (Brown *et al.*, 2003; Chen, 2001; Chaney *et al.*, 1999) y está surgiendo como un método terapéutico atractivo debido a su costo relativamente bajo. Además de la remoción de contaminantes, ésta técnica mejora la estructura y otras propiedades del suelo, así como su fertilidad y ofrece también la posibilidad de bio-recuperación de ciertos contaminantes como por ejemplo metales pesados (Chaney *et al.*, 2000). Aunque el conocimiento básico de que las plantas pueden ser usadas para remediación del ambiente ha sido desde décadas pasadas, solo recientemente ha sido reconocido completamente el valor de las plantas acumuladoras de metales en la recuperación de suelos contaminados (Salt *et al.*, 1997).

Después de una minuciosa investigación, la fitorremediación se está convirtiendo en una tecnología alternativa realmente útil, económica y efectiva de remediación de suelos contaminados (Watanabe, 1997). Esta nueva técnica de enmienda está basada en prácticas agronómicas, es rápida y eficiente y consiste en cultivar plantas en un lugar contaminado, después cosecharlas y estas plantas llenas de metales pesados podrían venderse a compañías de energía eléctrica como fuente de biomasa para generar energía, la que a su vez podría generar una ganancia. Las cenizas resultantes de la incineración también podrían ser llevadas a una fundición para recuperar el metal y nuevamente crear un flujo de ingresos (Raskin *et al.*, 1997; Salt *et al.*, 1995).

Varios análisis han demostrado que el costo de fitoextracción de metales es sólo una fracción de aquellos asociados con técnicas de ingeniería convencionales. Además, debido a que remedia el suelo *in situ*, la fitorremediación evita una ruptura dramática del terreno y preserva

el ecosistema. Es importante reconocer que la fitorremediación, comparada con otras técnicas de descontaminación de suelos, ofrece ventajas adicionales a la limpieza de suelos y mantos freáticos al desarrollar alguno de los siguientes mecanismos: Incremento de la actividad y población microbiana en el subsuelo, que eleva la cantidad de carbón orgánico, mejoras en la aeración del suelo por la liberación de oxígeno por las raíces, retrasa el movimiento e intercepción de compuestos orgánicos y algunos metales, estimula la transformación de compuestos tóxicos a compuestos de menor toxicidad, captación de hidrocarburos volátiles por las hojas, que sirven de “tapadera” a los lugares contaminados (Lasat, 2002).

En la fitorremediación es necesario considerar que hay muchas limitantes que necesitan ser superadas, por ejemplo, los mecanismos moleculares, bioquímicos y fisiológicos son pocos conocidos e insuficientemente entendidos, al igual que los procesos que desarrollan las plantas hiperacumuladoras; un gran número de plantas hiperacumuladoras todavía pueden descubrirse e identificarse (Freitas *et al.*, 2004; Prasad y Freitas, 2003; Raskin *et al.*, 1994). El proceso de fitorremediación es lento porque el índice de acumulación es directamente proporcional al crecimiento de la planta, porque no hay planta con todas las características adecuadas con los criterios ideales de una hiperacumuladora eficaz (crecimiento rápido y raíces extensas de biomasa alta, fáciles de cosechar, plantas acumuladoras de una amplia gama de metales tóxicos), por lo que es necesario modificarlas genéticamente para mejorarlas y emplearlas satisfactoriamente como agentes en el proceso de fitorremediación (Clemens *et al.*, 2002; Maagher *et al.*, 2000; Lovley y Coates, 1997).

### Plantas Hiperacumuladoras de Metales Pesados

Todas las plantas poseen un potencial para absorber una amplia variedad de metales del suelo, pero la mayor parte de las plantas tienden solamente a absorber los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Existe una notable excepción de esta regla para un pequeño grupo de plantas que pueden tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, estas plantas reciben el nombre de hiperacumuladoras (Chen *et al.*, 2001). El concepto de "planta hiperacumuladora" fue establecido por Brooks y sus colaboradores en 1977, quienes fueron los pioneros en el estudio de plantas que pueden acumular metales. Una definición propone

que si una planta contiene más de 0.1% de Ni, Co, Cu, Cr y Pb o 1% del Zn en sus hojas sobre una base del peso seco, ésta puede ser llamada una “hiperacumuladora”, independientemente de la concentración del metal en el suelo (Robinson *et al.*, 2003; Chaney *et al.*, 2000; Chaney *et al.*, 1997; Baker y Brooks, 1989).

De acuerdo con Salt *et al.*, (1998), se establece que el botánico A. Baumann, trabajando en los límites entre Bélgica y Alemania observó las hojas de ciertas especies de plantas que crecían en suelos enriquecidos naturalmente con zinc y conteniendo altas concentraciones de este elemento. Las especies que particularmente registró fueron la violeta (*Viola aclamaria*) y la mostaza (*Thlaspi calaminare*) recientemente clasificada como *Thlaspi caerulescens*. Las cuales contenían cerca de 1 y 1.7% de zinc en el peso seco de las hojas. Estas fueron comparadas con los niveles de cinc entre 0.001 y 0.02% del peso seco de hojas de otras plantas.

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

En investigaciones realizadas por Chaney, al evaluar plantas llamadas “hiperacumuladoras”, se encontró que la especie conocida como *Thlaspi caerulencens* acumula hasta 30 000 ppm de zinc y hasta 6000 ppm de cadmio en sus hojas, sin reducir el rendimiento de la planta (Brown *et al.*, 1995). Otras especies como *Chichorium intybus*, *Erigeron canadensis* y *Eupatorium capillifolium* han sido investigadas como especies indicadoras de cadmio, cromo, níquel o vanadio, es decir como especies que indican la biodisponibilidad de estos metales contaminantes, por incorporarlos sin mostrar síntomas de toxicidad. El *Amaranthus reflexus* ha demostrado ser efectiva en absorber el amenazador cesio-137 radiactivo, también resulta

muy prometedora como hiperacumulador de plomo, por su parte el helecho originario de Florida, *Pteris vittata* es capaz de absorber el peligroso arsénico, lo más curioso es que el helecho crece mejor en suelos que contienen elevadas cantidades de arsénico que en los que carecen de él (Martín *et al.*, 1996).

El cadmio se puede acumular en girasol, *Helianthus annuus* (Davies *et al.*, 2001; Simón, 1998). El girasol es una rizofiltradora potencial de cadmio, níquel, cobre, cinc, cromo y plomo; así como de radioisótopos (Brooks, 1998). Existen plantas que al mismo tiempo que son hiperacumuladoras de cobre, lo son del cobalto, entre ellas algunas especies de la familia *Asteraceae* (Brooks 1998). El girasol (*Helianthus annuus* L.) es la especie que absorbe los metales pesados en mayor cantidad en sus raíces que en sus brotes si se cosecha la biomasa entera de la planta, por lo que se considera una planta hiperacumuladora favorable en la fitoextracción de Cd, Zn, Pb y elementos radiactivos (Christie *et al.*, 2004; Reeves, 2003; Davies, 2002; Cabrera *et al.*, 1999; Kumar *et al.*, 1995).

Desde el punto de vista ecológico el papel de las plantas hiperacumuladoras no está aun completamente claro, pero se ha supuesto que éstas suministran protección contra el ataque de hongos patógenos e insectos. Las recientes evidencias han confirmado la función de protección de la acumuladora de níquel contra hongos y bacterias patógenos en *Stephanthus polygaloides* e insectos herbívoros en *S. polygaloides* y *T. montanum* (Li *et al.*, 2003). El efecto contra los insectos herbívoros está bien demostrado en *Thlaspi caerulescens*, que es una planta hiperacumuladora de zinc.

Con esta extraordinaria habilidad las plantas hiperacumuladoras de metales pueden ser usadas en actividades de remediación en el ambiente, además que constituyen un importante recurso biológico en las futuras revegetaciones y fitorremediaciones de áreas contaminadas con metales pesados. Sin embargo, las aplicaciones máximas todavía no se han logrado; una razón importante es la falta de conocimientos de los mecanismos moleculares y procesos biológicos involucrados que permiten tolerar, la adquisición, el transporte y acumulación de los metales en las planta, incluso que se puedan alimentar de los metales (Lovley, 1997).

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

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

En fitorremediación se necesitan plantas de rápido crecimiento con una alta capacidad de incorporación de metales y una rápida ganancia de biomasa, para que puedan interferir en la biodisponibilidad de metales tóxicos en suelos y las limitaciones de las plantas hiperacumuladoras son pequeña biomasa radicular, su restringida selectividad de los elementos, el pobre conocimiento acerca de la agronomía, la genética y las enfermedades de éstas plantas. En su gran mayoría las plantas que acumulan metales son especies silvestres pequeñas en tamaño y tienen las tasas de crecimiento lento como ejemplo se tiene a *Thlaspi caerulescens*, que es una planta no micotrófica y de lento crecimiento son características que limitan el porcentaje de la fitoextracción. (Baker y Walker, 1997).

Otras plantas acumuladoras con abundante biomasa son micotróficas tales como girasol y sauce, por lo que ahora reciben mayor atención que asociadas con hongos micorrízicos (HMA), son tolerantes a metales y pueden por lo tanto ser consideradas para descontaminar suelos levemente contaminados. La asociación de las plantas con hongos micorrízicos representa una serie de importantes ventajas entre las que destacan protección contra ataque de

parásitos y enfermedades, mayor área de extensión de las raíces facilitando la absorción de nutrimentos así como también contaminantes inorgánicos y orgánicos (Leyval *et al.*, 2001; Ernst, 2000).

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

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

### Categorías de la Fitorremediación

La fitorremediación de acuerdo con Salt *et al.*, (1998) generalmente se divide en las siguientes áreas: fitoextracción, fitovolatilización, rizofiltración fitodegradación, y fitoestabilización que se describen a continuación (Figura 1).

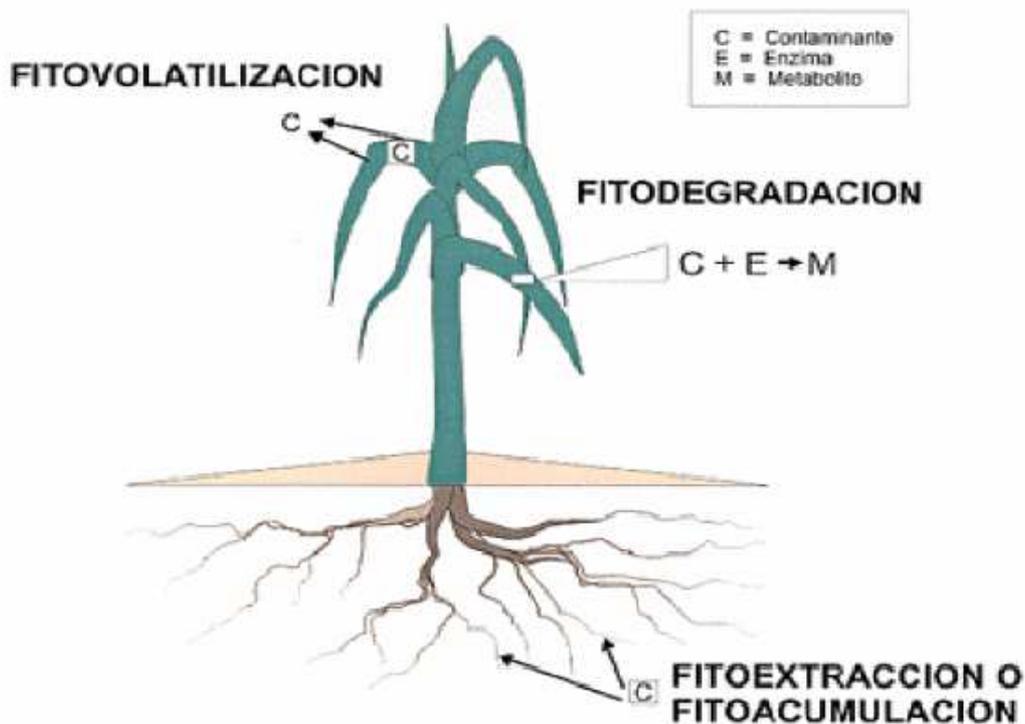


Figura 1. categorías de la fitorremediación de suelos contaminados (Lasat, 2002).

La fitoextracción, conocida también como fitoacumulación, es la captación de metales contaminantes por las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas. Algunas plantas absorben cantidades extraordinarias de metales en comparación con otras. Se selecciona una de estas plantas o varias de este tipo y se plantan en un sitio, según los metales presentes y las características del lugar. Después de un tiempo, cuando las plantas han crecido, se cortan y se incineran o se deja que se transformen en abono vegetal para reciclar los metales. Este procedimiento se puede repetir la cantidad de veces que sea necesario para reducir la concentración de contaminantes en el suelo a límites aceptables. Si se incineran las plantas, las cenizas deben colocarse en un vertedero para desechos peligrosos, pero la cantidad de ceniza será sólo alrededor del 10 % del volumen de los desechos que habría que eliminar si se excavara el suelo contaminado para tratarlo (Robinson *et al.*, 2002; Khan *et al.*, 2001; Chaney *et al.*, 1997).

La fitovolatilización se produce a medida que los árboles y otras plantas en crecimiento absorben agua junto con contaminantes orgánicos. Algunos de los contaminantes pueden llegar hasta las hojas y evaporarse en la atmósfera. Los álamos, por ejemplo, evaporan el 90% de los contaminantes que absorben (Raskin *et al.*, 1997)

La rizofiltración es una técnica prometedora para abordar el problema de la contaminación del agua con metales. La rizofiltración es similar a la fitoextracción, pero las plantas que se usan para la limpieza se cultivan en invernaderos con las raíces en agua, en lugar de suelo.

De este modo las raíces absorben el agua junto con los contaminantes. A medida que las raíces se saturan de contaminantes, se cortan y se eliminan. Además de extraer metales del agua, la rizofiltración puede ser útil para descargas industriales, escorrentía de tierras agrícolas, drenaje de minas de ácidos y contaminantes radiactivos. Las plantas de girasol fueron utilizadas con éxito en la extracción de contaminantes radiactivos del agua de una laguna en una prueba realizada en Chernobyl Ucrania (Duschenkov *et al.*, 1995).

La fitoestabilización es un proceso mediante el cual se reduce la movilidad de los contaminantes y previene la migración de metales a aguas subterráneas o al aire, también reduce su biodisponibilidad hacia la cadena alimenticia. Esta técnica también se utiliza para reforestar sitios disturbados que carecen de vegetación debido a las altas concentraciones de contaminantes, las plantas tolerantes a los metales se utilizan para restaurar la vegetación y de esa manera disminuir la migración potencial de la contaminación con la erosión del viento y de la lixiviación de contaminantes del suelo a aguas subterráneas. En algunos casos de fitoestabilización, los metales pueden ser transformados a menos biodisponibles y por consiguiente a formas menos tóxicas (Reeves, 2003; Berti y Cunningham, 2000).

#### Características Botánicas del Girasol

Pertenece a la familia de las *Asteraceae* cuyo nombre científico es *Helianthus annuus*. Es una planta anual, con un desarrollo vigoroso en todos sus órganos, dentro de esta especie existen numerosos tipos o subespecies cultivadas como plantas ornamentales, oleaginosas y forrajeras, cada una de las partes de la planta se describen a continuación.

De acuerdo con Alba y Llanos (1990), está formada por una raíz pivotante y un sistema de raíces secundarias de las que nacen las raíces terciarias que exploran el suelo en sentido vertical y horizontal, normalmente la longitud de la raíz principal sobrepasa la altura del tallo.

El tallo es de consistencia semileñosa y maciza en su interior, es cilíndrico y con diámetro variable entre 2 y 6 cm y a una altura hasta el capítulo entre 40 cm y 2 m. La superficie exterior del tallo es rugosa, asurcada y vellosa, excepto en su base (Alba y Llanos, 1990). Las hojas son alternas, grandes, trinervadas, largamente pecioladas acuminadas, dentadas y de áspera vellosidad tanto en el haz como el envés. El número varía entre 12 y 49, de acuerdo con las condiciones de cultivo y la variedad, el color también es variable y va de verde oscuro a verde amarillento.

La inflorescencia se caracteriza por poseer un receptáculo floral o capítulo puede tener forma plana, cóncava o convexa, el capítulo es solitario y rotatorio y esta rodeado por brácteas involucreales. Las flores del exterior del capítulo (pétalos amarillos) son estériles, están dispuestos radialmente y su función es atraer a los insectos polinizadores. Las flores del interior están formadas por un ovario inferior, dos sépalos, una corola en forma de tubo compuesta por cinco pétalos y cinco antenas unidas a la base del tubo de la corola.

El fruto es un aquenio de tamaño comprendido entre 3 y 20 mm de largo y 2 y 13 mm de ancho. El pericarpio es fibroso y duro, quedando pegado a la semilla, la membrana seminal crece en el endospermo y forma una película fina que recubre al embrión y asegura la adherencia entre el pericarpio y la semilla.

#### Requerimientos Edafoclimáticos

Es un cultivo poco exigente en el tipo de suelo, aunque prefiere los arcillo-arenosos y ricos en materia orgánica, es muy poco tolerante a la salinidad y contenido de aceite disminuye cuando ésta aumenta en el suelo. En suelos neutros o alcalinos la producción de girasol no se ve afectada, además es una de las plantas con mayor capacidad para utilizar residuos químicos (Alba y Llanos, 1990).

La temperatura es un factor muy importante en el desarrollo del girasol, adaptándose muy bien a un amplio margen de temperatura que van desde 25-35 ° C a 13-17 ° C. Las diferencias en

cuanto a la aparición de hojas, fecha de floración y a la duración de las fases de crecimiento y desarrollo son atribuidas al fotoperiodo. Durante la fase reproductiva el fotoperiodo deja de tener influencia y comienza a tener importancia la intensidad y la calidad de la luz, por tanto un sombreado en plantas jóvenes produce un alargamiento del tallo y reduce la superficie foliar (Alba y Llanos, 1990).

#### Particularidades del Cultivo

La época de siembra es variable y depende de las características climatológicas de cada región. El conocimiento de la forma que tiene la planta de crecer y desarrollarse sus órganos, desde la germinación de la semilla hasta la maduración de las mismas, permite una correcta utilización de los medios de producción, y una interpretación acertada de la forma de reaccionar de la planta frente a la influencia del medio ambiente y a las prácticas agrícolas utilizadas para su producción (Carter, 1987).

Las semillas de girasol, presentan un hábito de crecimiento como se explica a continuación: la germinación de la semilla es aproximadamente de 10 a 20 días, entre los 15 y 25 días se produce el enraizamiento de la planta, el período de crecimiento más activo de la planta es alrededor de 40 y 50 días, aparecen de cinco pares de hojas al principio de floración en el cual se presenta la máxima absorción de elementos minerales del suelo. La floración puede durar de 10 a 12, días comienza con la apertura de las primeras flores liguladas y finalmente la maduración puede durar entre 35 y 50 días. Esta fase comienza con el final de la floración y llega hasta el estado de madurez fisiológica (Alba y Llanos, 1990) (Figura 2).

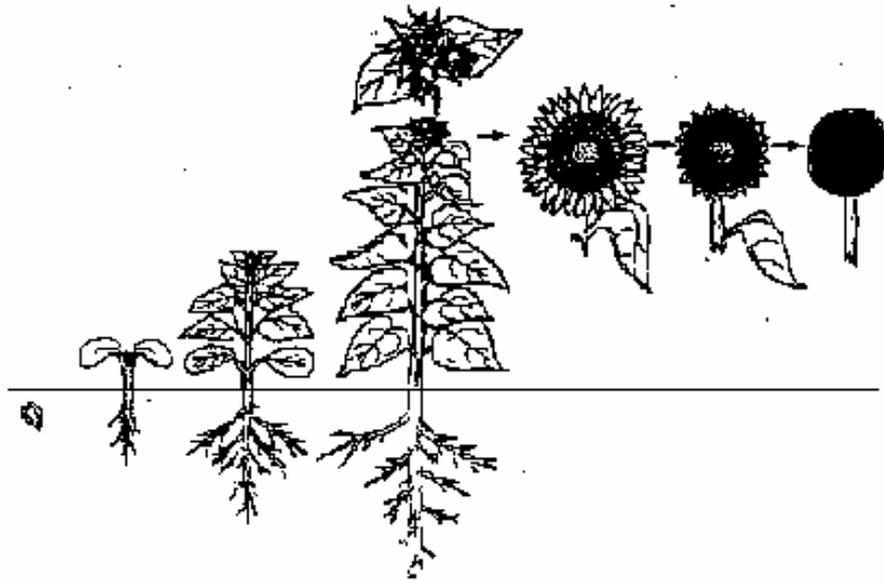


Figura 2. Fenología de la planta del girasol, tomada de (Alba y Llanos, 1990).

Las características favorables del girasol como planta fitorremediadora son: facilidad de manejo en su cultivo; se adapta fácilmente a un amplio intervalo en la variación de temperatura; la época de la siembra es variable y depende de las características climatológicas de cada región; es una planta hiperacumuladora de una variedad de metales pesados como: Cr (III), Cr (IV), (Davies *et al.*, 2001), de As, Bi, Cd, Cu, Mn, Pb, Sb, TI y Zn (Christie *et al.*, 2004; Cabrera *et al.*, 1999), también metales radioactivos como uranio (De Oliveira 1999; De Oliveira *et al.*, 2003); es una planta micotrófica (Davies *et al.*, 2001; Cabrera *et al.*, 1999; Chandrashekara *et al.*, 1995) y puede remediar tanto suelos como aguas contaminadas.

Como se mencionó anteriormente una de las limitaciones de la utilización de plantas para recuperar suelos contaminados es su lento crecimiento y su poca biomasa radicular (Raskin, 1995; Chaudhry *et al.*, 1998), pero de acuerdo con Xiong, (1997) y Davies (2001) las *Asteraceae* toleran altos niveles de algunos metales en comparación con otros grupos taxonómicos y se les ha propuesto como especies fitorremediadoras. El girasol es reportado con una alta biomasa radicular y capacidad de acumular metales, no obstante una baja tolerancia al cromo comparado con otras plantas acumuladoras (Shahanden y Hossner, 2000).

### Agentes Quelatantes

Ciertos agentes quelatantes sintéticos, facilitan la disponibilidad de iones metálicos para el crecimiento de las plantas y durante largo tiempo se han empleado, para colocar disponibles los metales pesados a las plantas. Así, el EDTA (ácido ethilenedraminetetraacético), fue efectivo porque facilitó la fitoextracción de cadmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn) a la adición de 10 mmol kg<sup>-1</sup> de EDTA a un suelo contaminado con 1200 mg de Pb por kg<sup>-1</sup> de suelo, lo que resultó con una acumulación de 1.6 % en tallos de *B. juncea*. El EDTA fue efectivo cuando se aplicó algunos días antes de cosechar las plantas (Blaylock *et al.*, 1997). Sin embargo, estos agentes quelatantes (EDTA, DTPA, etc.), son costosos y difícil su consecución, por lo que se hace necesaria la búsqueda de alternativas económica y ecológicamente factibles, para colocar los metales pesados disponibles a las plantas y así estar en posibilidades de remediar los suelos contaminados con estos materiales.

### Sustancias Húmicas

Schnitzer (1978), divide a la materia orgánica del suelo, en dos grupos: sustancias no húmicas y húmicas.

Las sustancias no húmicas son carbohidratos, proteínas, grasas, ceras, resinas, pigmentos y compuestos de bajo peso molecular (ácidos orgánicos) (Aleksandrova, 1994; Schnitzer y Schulten, 1995 y Yano *et al.*, 1998).

Las sustancias húmicas son una mezcla heterogénea de macromoléculas orgánicas, con estructura química compleja, distinta y mas estable que su forma original; provienen de la descomposición de residuos de plantas y animales, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982).

Los ácidos húmicos y fúlvicos, son macromoléculas aromáticas complejas, muy estables, con estructura polimérica en forma de círculos, cadenas y racimos (Schnitzer y Schulten, 1995), y ciclos aromáticos condensados, con aminoácidos, amino-azúcares, péptidos y compuestos alifáticos (Schnitzer, 2000).

La forma de extracción de las sustancias húmicas, de compostas y otros materiales orgánicos, representa el punto más crítico para su estudio. La manera más eficiente, y con amplio uso, es por vía química, con ácidos y álcalis. El compuesto más usado es el hidróxido de sodio (Na OH), a concentraciones de 0.1 y 0.5 N, en solución acuosa (Sorge *et al.*, 1994; Amalfitano *et al.*, 1995; Schnitzer y Schulten, 1995).

Una vez producido el humus, este se divide en tres fracciones: ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) y huminas residuales (HR), las cuales son llamadas sustancias húmicas (Piccolo y Stevenson, 1982).

Los materiales húmicos intervienen en el metabolismo y nutrición mineral de las plantas (Adani *et al.*, 1998).

Las sustancias húmicas (SH) son los ácidos húmicos (AH), los ácidos fúlvicos (AF) y las huminas residuales (HR) y son definidas como una mezcla heterogénea de macromoléculas orgánicas, con estructura química muy compleja, distinta y más estable que su forma original y provienen de la degradación de residuos de plantas y animales, gracias a la actividad enzimática de los microorganismos (Fründ *et al.*, 1994; Schnitzer, 2000) y por metamorfismo de residuos orgánicos, después de millones de años, sepultados por arcillas en deltas de ríos (minerales fósiles).

#### Propiedades de los Ácidos Fúlvicos

Los ácidos húmicos (AH) y los ácidos fúlvicos (AF) poseen un alto contenido de grupos funcionales libres oxigenados (-COOH y -OH), que pueden complejar y/o quelatar cationes, sobre todo metálicos, ya que son más rápidamente adsorbidos que los alcalino-térreos (Harter y Naidu, 1995). En los primeros compuestos orgánicos, dominan los grupos funcionales carboxilos (entre 500 y 900 meq/100g) y para los segundos, los grupos oxhidrilos fenólicos (no más de 1400 meq/100g), porque más del 80 % de la estructura molecular de dichos ácidos, está formada por los grupos funcionales mencionados (Harter y Naidu, 1995; Schnitzer, 2000). Contrario a lo anterior encontró López (2002), al analizar compuestos húmicos extraídos de compostas.

Ácidos fúlvicos (AF): es la porción soluble en agua bajo todas las condiciones de pH. Ellos permanecen en solución después de la separación de los ácidos húmicos (AH) por acidificación. Los AF son de color amarillo claro a café - amarillento, de bajo peso molecular (de 170 a 2000 KDa), 45 % de carbón y 48 % de oxígeno (12 % más que los AH).

Los ácidos fúlvicos tienen bajo peso molecular, alto contenido de oxígeno, pero bajo contenido de carbón; contienen más grupos funcionales de naturaleza ácida, particularmente carboxilos (COOH). La acidez total es de 900 a 1400 meq/100g y considerablemente más altos que los ácidos húmicos (400 a 870 meq/100g) (Stevenson, 1982).

Otra importante diferencia es que, el oxígeno de los ácidos fúlvicos puede ser considerado de gran manera, como grupos funcionales (-COOH, OH, C = O), unidos a cadenas alifáticas y ciclos aromáticos, mientras que en los ácidos húmicos, la mayor porción de oxígeno, parece estar presente como un componente estructural del núcleo y/o ciclos aromáticos (Stevenson y Schnitzer, 1982).

#### Efecto De Los Ácidos Fúlvicos En El Crecimiento Vegetal.

Como efectos indirectos las sustancias húmicas intervienen en la disponibilidad de iones y traslocación dentro de las plantas (Linehan, 1976; Adani *et al.*, 1998).

Sladky (1959), los ácidos fúlvicos, incrementaron la longitud de raíces de tomate, 10 % más que el testigo, pero el peso seco y fresco fueron aumentados en 245 y 390 % respectivamente. Los ácidos húmicos estimularon la longitud de raíces en un 54 % y la de la parte aérea en 146 %. Pero, el contraste más marcado, fue cuando la longitud de la parte aérea, de las plantas de tomate, tratadas con ácidos fúlvicos, fue superior en 170 %, mientras que las raíces, solo aumentaron un 10 %.

No obstante, la respuesta de las plantas, depende de la concentración de ácidos fúlvicos (AF), de la especie vegetal y de la fuente de estos ácidos (Kononova, 1961).

Linehan (1976) y Adani *et al.*, (1998), postulan que los grupos carboxilos y los hidroxilos fenólicos y alcohólicos de los ácidos fulvicos, son los responsables para la influencia de estos ácidos en la raíz de los hipocotilos, como un resultado de su actividad quelatante con el hierro.

Los compuestos de bajo peso molecular (ácidos fúlvicos) intervienen en la solución de iones metálicos e influyen en el transporte hacia las raíces de las plantas. En contraste, compuestos de alto peso molecular (ácidos húmicos), funcionan como una “piel” para los cationes polivalentes (Stevenson, 1982).

A pesar de lo comentado, no hay evidencia de que las sustancias humicas (SH) intervengan en la disponibilidad de iones y su traslocación dentro de la planta (Kuiters y Mulder, 1993), es decir, que actúen como suplidores y reguladores de la nutrición vegetal en forma similar a los intercambiadores sintéticos de iones (agentes quelatantes) (Orlov, 1995; Pettit, 2004).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Características Generales del Área

El experimento se desarrolló en el área de prácticas del Departamento de Ciencias del Suelo del *Campus* principal de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, ubicada en la colonia Buenavista municipio de Saltillo, Coahuila México, a los 25 23' latitud norte, 101 00' de longitud Oeste y a una altura de 1742 msnm.

El clima es seco y templado con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 13.3 ° C, con una oscilación media de 10.4° C. Los meses mas cálidos son Junio, Julio y Agosto con temperaturas máximas de 37° C. Durante Enero y Diciembre se registran temperaturas de hasta -10 C, con heladas regulares en el periodo de Diciembre a Febrero.

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

### Metodología

En una “cama” de siembra de 10 m<sup>3</sup>, previamente a este experimento se colocaron ocho áreas del horizonte Ap de un calcisol de 1.25 m<sup>3</sup>, las que se contaminaron con 750 y 1000 ppm de nitrato de plomo y se emplearon diversos agentes quelatantes para fitoextraer con girasol ornamental el metal pesado. Al inicio de este experimento se midieron los contenidos de plomo en cada área (Cuadro 2) y las características presentadas en el Cuadro 3.

Cuadro 2.- Contenido de plomo de los 30 cm superficiales, de ocho áreas del horizonte Ap de un calcisol, al iniciar el experimento.

Tratamientos	Cantidad de plomo total en el suelo. (mg Pb kg <sup>-1</sup> de suelo)	Agente quelatante usado
1		DTPA
	2970	
2	3540	T
3	2590	T
4	4900	AFM
5	4850	K
6		K
	2190	
7	3930	DTPA
8		AFM
	2990	

Cuadro 3. Otras características determinadas al suelo empleado al inicio del experimento.

Determinaciones	Método
Densidad aparente	Probeta
Textura	Hidrómetro de Bouyoucous
Materia Orgánica	Walkley y Black (1947)
Conductividad eléctrica	Pasta de saturación
PH	Potenciómetro
Pb total	PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004
Zn soluble	Calcinación

Se adicionaron los tratamientos (100 mg de ácido fúlvico de diferente origen kg<sup>-1</sup> de suelo) (Cuadro 4), se regó el suelo y después se sembró semilla de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”, a razón de 39 plantas m<sup>2</sup>. Posteriormente cada ocho días se aplicaron de nuevo los tratamientos, en una cantidad de tres ocasiones más.

La cantidad cada agente quelatante usado en el experimento se determinó tomando en cuenta la densidad aparente del suelo y el área de cada tratamiento (Cuadro 4).

Cuadro 4.- Cantidad de agente quelatante usado para remediar un suelo contaminado con plomo, junto con girasol ornamental cv. “Sunbrighth”.

Agente Quelatante	Ácido Fúlvico (%)	Cantidad aplicada por tratamiento.
AFM	14	99.27 g
DTPA	100	13.899 g de DTPA*
K	25	55.596 g de K-tionic

AFM.- Ácidos fúlvicos de composta.

DTPA.- Ácido dietiltriaminopentaacético.

K.- Ácidos fúlvicos de leonardita comerciales.

Los ácidos fúlvicos (AF) empleados como tratamientos, fueron obtenidos de una composta elaborada a base de gallinaza (Miyaoorganic<sup>®</sup>), obtenidos mediante la metodología adecuada por López (2002), los cuales fueron denominados AFM y poseen una concentración de 14 por ciento. A los AFM, por reacción ácido-base, por triplicado se les midió la acidez total (AT), es decir, los grupos funcionales libres carboxilos (–COOH) y oxhidrilos (–OH) en  $\text{cmol kg}^{-1}$  (Schnitzer y Gupta, 1965), además, esto también se le realizó al producto comercial denominado K-tionic (ácidos fúlvicos de leonardita-mineral fósil) y al DTPA (agente quelatante sintético), los cuales fueron empleados como tratamientos.

El experimento se distribuyó de acuerdo a un Diseño Completamente al Azar, con tres repeticiones, donde tres plantas configuraron una repetición. El análisis estadístico consistió en el análisis de varianza (ANVA) y la prueba de medias con Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para lo cual se empleó el paquete para computador MINITAB versión 14 para WINDOWS.

Las variables evaluadas a la planta fueron: altura (AP), diámetro de tallo (DT), diámetro de capítulo (DC) y materia seca (MS). De los 10 cm superficiales de suelo y de tejido vegetal de follaje, se colectaron muestras después de seis semanas del establecimiento del cultivo y se les midió el contenido de plomo. Al término del experimento, de acuerdo con el proyecto de

norma oficial mexicana (PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) por normativizar la remediación de sitios contaminados (SEMARNAT, 2005) al suelo a las profundidades de 0 – 10 cm y de 10 a 30 cm, se le cuantificó el contenido de plomo y también al tejido vegetal de follaje, tallos y capitulo, por calcinación y utilizando ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) (vía seca) (Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) - tipo Varian). También, al final del ciclo, al tejido vegetal de follaje y tallo, se le midió el contenido de cinc (Zn), además, éste también fue cuantificado al suelo a la mitad y al final del ciclo del cultivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características del Suelo.

En la siguiente tabla se presentan algunas características físicas y químicas determinadas en el suelo antes del establecimiento del cultivo.

**Cuadro 5. Resultados de las determinaciones para la caracterización del suelo.**

Características	Resultados
Densidad aparente	1.13 g cm <sup>-3</sup>
Textura	
Materia Orgánica	4.37 %
Conductividad eléctrica	0.20 ----
PH	7.6

Cuadro 6. Cantidades de plomo total determinadas en dos profundidades de suelo, por vía húmeda (PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004).

Tratamiento	Pb total (ppm) de 0 – 10 cm	Pb total (ppm) de 10 – 30 cm
1	2790	180
2	2450	1090
3	2380	210
4	4720	180
5	4000	850
6	1990	200
7	3780	150
8	2790	200

La mayor cantidad de grupos COOH libres se encontró en los AFM, con un 14 % de ácido fúlvico y una acidez total de 702 cmol<sub>c</sub> Kg<sup>-1</sup> (cuadro 7).

Cuadro 7. Acidez total (AT), grupos funcionales libres carboxilos (-COOH) y grupos funcionales libres oxidrilos fenólicos (-OH) de diversos compuestos orgánicos, adicionados a un suelo contaminado con plomo.

Material	AT ( $\text{cmol}_c \text{ Kg}^{-1}$ )	-COOH ( $\text{cmol}_c \text{ Kg}^{-1}$ )	-OH ( $\text{cmol}_c \text{ Kg}^{-1}$ )	Porcentaje
K-tionic	182	74	108	25.0
AFM	702	530	172	14.0
DTPA	551	341	210	

Variables Agronómicas

De acuerdo con el análisis de varianza, la altura de planta, presentó diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos, lo cual significa que para esta variable al menos un tratamiento es diferente (Cuadro 8 y Figura 3).

Cuadro 8. Análisis de varianza (ANVA) para la variable altura de plantas del cv. “Sunbrighth” girasol ornamental en suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	6223.98	889.14	10.66	0.000 **
Repetición	2	6.89	3.45	0.04	0.960 NS
Error	14	1167.49	83.39		
Total	23	7398.36			

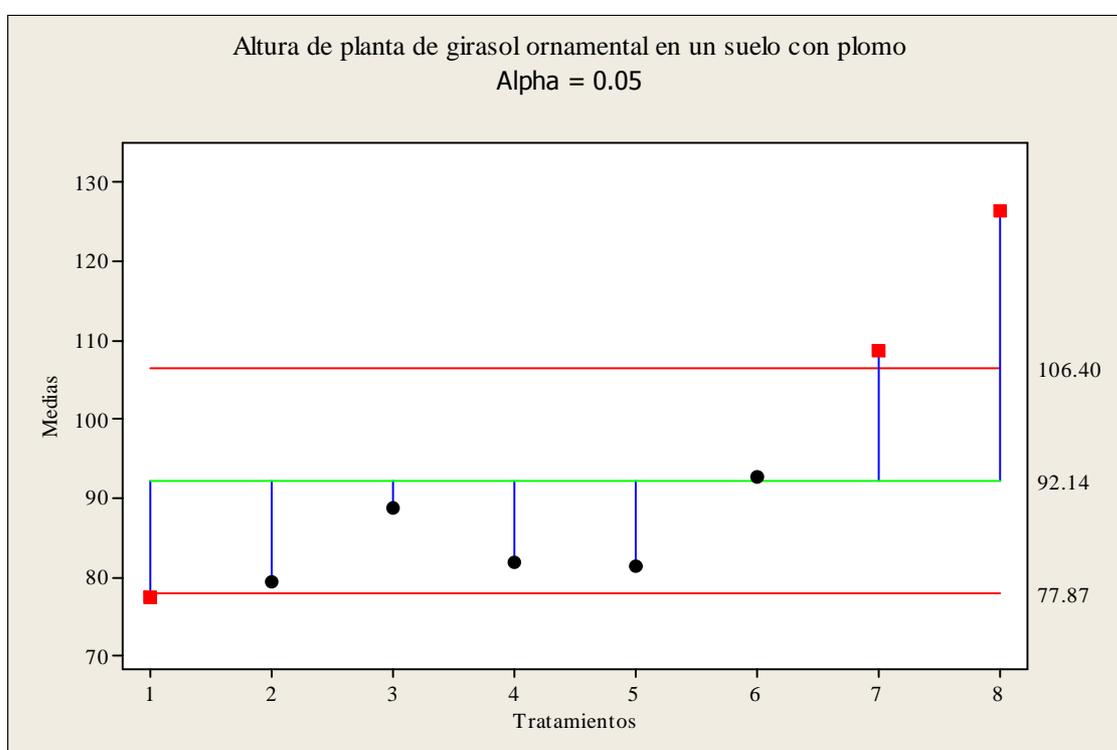


Figura 3. Comparación de medias de la altura de plantas de girasol ornamental cv. “sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.

De acuerdo a lo anterior, los valores mas altos de altura de plantas se registraron en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, al aplicar los AFM, tanto a mitad del ciclo de cultivo como al final del mismo (Figuras 4 y 5). La altura de plantas al final del ciclo, para este tratamiento, fue de 126.57 cm, valor que supera a los demás tratamientos, incluyendo al tratamiento cuatro, el cual corresponde al suelo contaminado con 4900 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo

y que fue adicionado con AFM, lo que significa que los AFM favorecieron la disponibilidad de los elementos esenciales para el crecimiento de las plantas desde las primeras etapas de desarrollo del cultivo en el suelo levemente contaminado, mientras que cuando la contaminación fue alta, el plomo creó efecto tóxico.

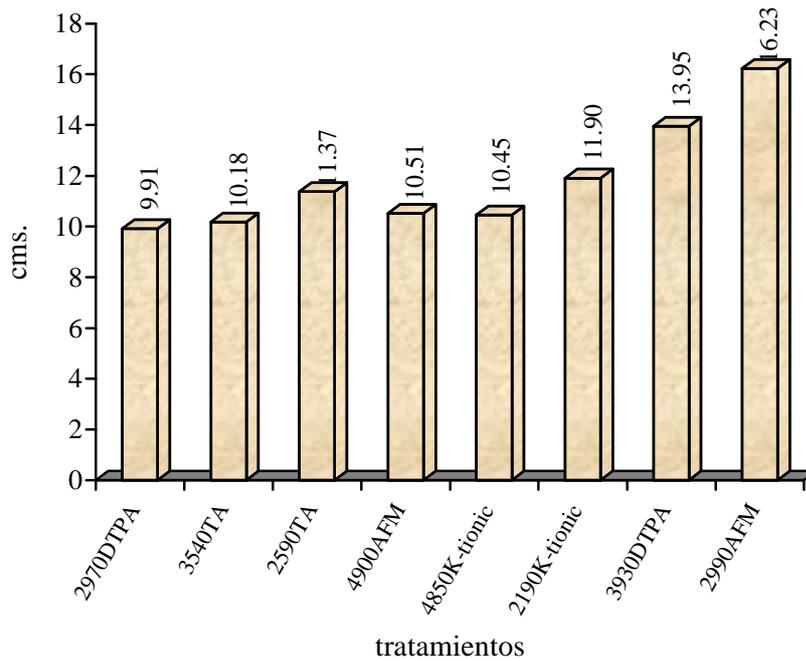


Figura 4. Altura de planta de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” a la mitad del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo.

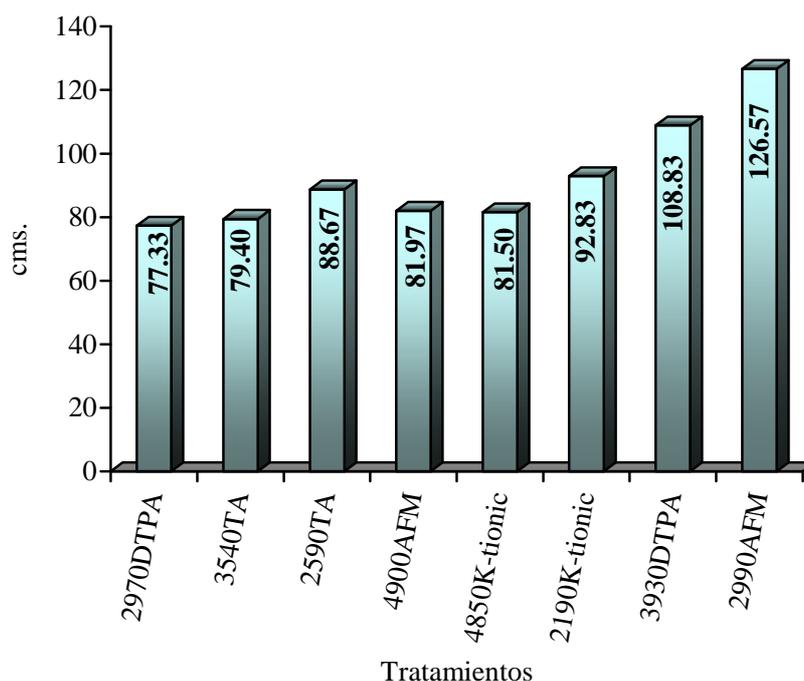


Figura 5. Altura de plantas de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

En el diámetro de tallo, los tratamientos ejercieron efectos altamente significativos, como se muestra en el Cuadro 9. Las diferencias se ven en la comparación de medias de Tukey (Figura 6).

Cuadro 9. Análisis de varianza (ANVA) para el diámetro de tallos de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	1.17073	0.16725	10.41	0.000 **
Repetición	2	0.03652	0.01826	1.14	0.349 NS
Error	14	0.22501	0.01607		
Total	23	1.43226			

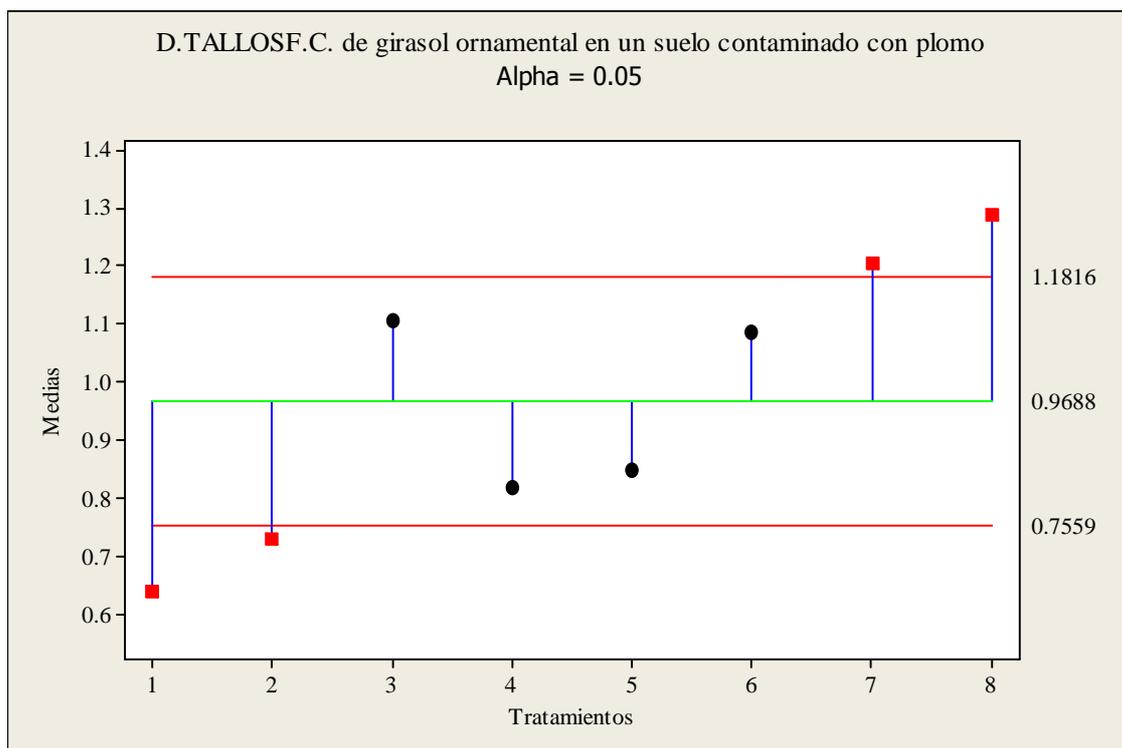


Figura 6. Prueba de medias de Tukey para el diámetro de tallos del cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigth” en un suelo contaminado con plomo.

El valor mas alto de diámetro de tallos fue de 1.29 cm el cual se registró en el tratamiento ocho, correspondiente al suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y donde se adicionaron los AFM como agente quelatante, superando a los demás, incluyendo al tratamiento que corresponde al suelo que también fue tratado con los AFM, pero que presentó 4900 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo (Figura 7).

Aquí se aprecia que los valores mas bajos de diámetro de tallo se concentraron en el suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo al cual se le adicionó el DTPA como agente quelatante; lo anterior se debe a que estos materiales crean efectos negativos sobre el desarrollo de las plantas.

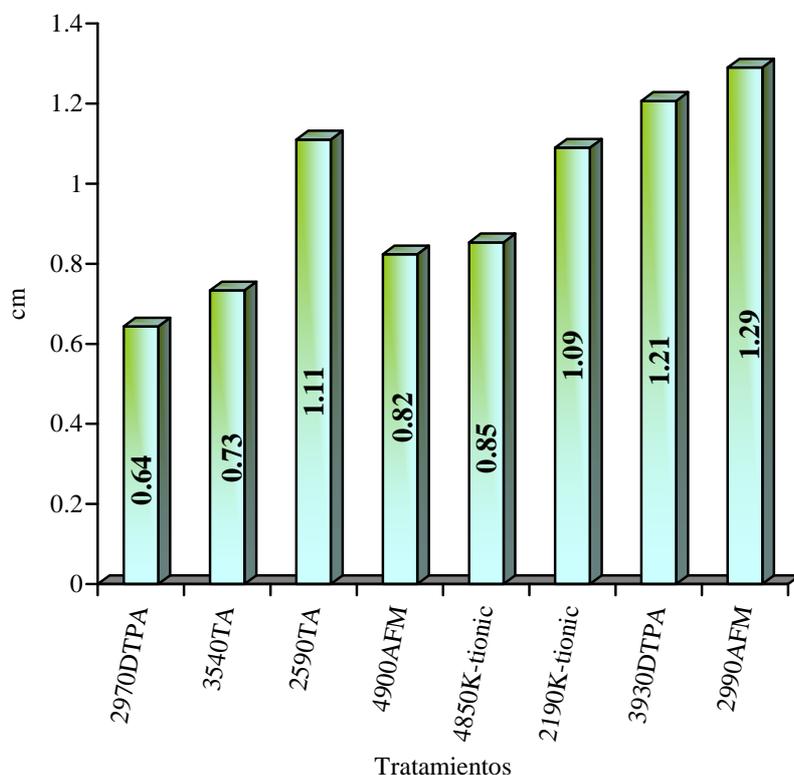


Figura 7. Diámetro de tallos en (cm) de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

En el diámetro de capítulo, los tratamientos y las repeticiones, ejercieron efecto altamente significativo y significativo, respectivamente, (Cuadro 10). Lo anterior se comprueba con la adición de DTPA a un suelo contaminado con 3930 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, y con la adición de los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo (Figuras 8 y 9).

Cuadro 10. Análisis de varianza (ANVA) para la variable diámetro de capítulos del cv. “Sunbrighth” girasol ornamental en suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	234.776	33.539	14.12	0.000**
Repetición	2	22.531	11.265	4.74	0.027*
Error	14	33.262	2.376		
Total	23	290.570			

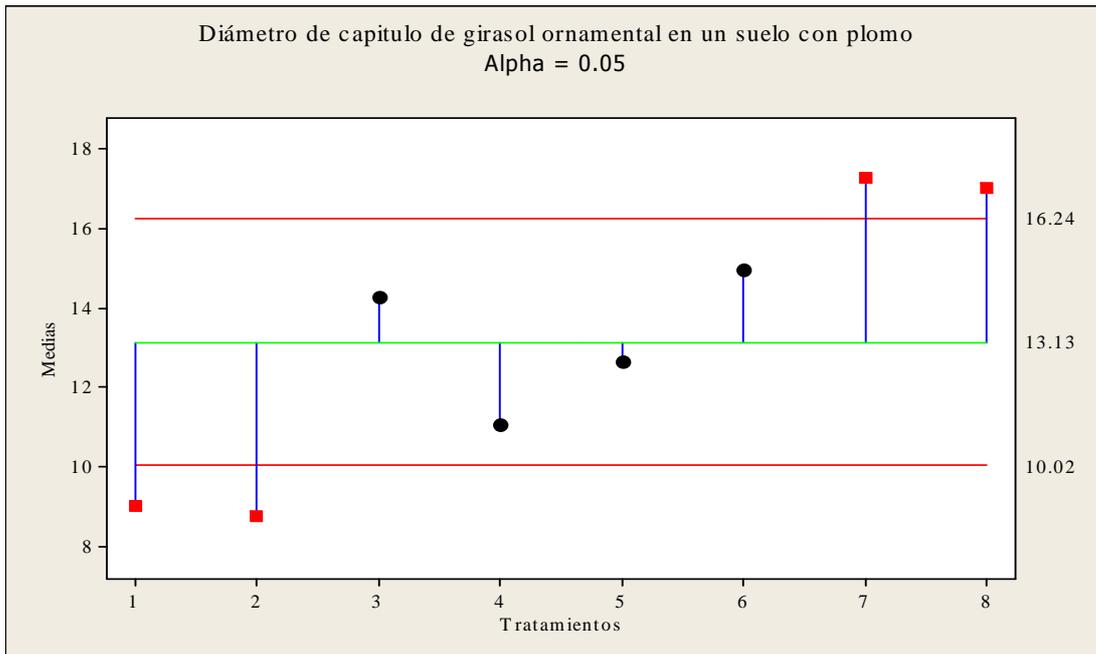


Figura 8. Prueba de medias de Tukey para el diámetro de capítulos de girasol ornamental, en un suelo contaminado con plomo.

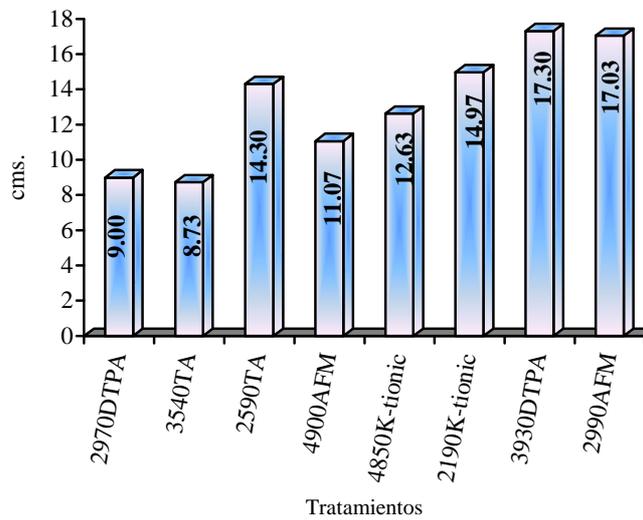


Figura 9. Diámetro de capítulos en cm, obtenidos de los tratamientos establecidos en el cultivo de girasol ornamental cv. "Sunbrigth" en un suelo contaminado con plomo.

El valor mas alto de diámetro de capítulos se registró en las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 3930 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo adicionado con DTPA; sin embargo, las diferencias con el tratamiento ocho no fueron considerables. Aquí es importante mencionar que para el caso de diámetro de capítulos, al igual que para altura de plantas y diámetro de tallo, la planta respondió mejor a la adición de DTPA cuando se adicionó éste al suelo con nivel mas alto de contaminación, que cuando la adición fue al suelo con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo.

Los tratamientos ejercieron efectos altamente significativos en materia seca (Cuadro 11), encontrándose el valor mas alto de 16.23 g, en las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, en el cual se usaron los AFM como agentes quelatantes (Figura 10).

Cuadro 11. Análisis de varianza (ANVA) de materia seca de follaje del cv. “Sunbrigth” de girasol ornamental al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	365.53	52.22	3.68	0.018
Repetición	2	14.16	7.08	0.50	0.618
Error	14	198.81	14.20		
Total	23	578.50			

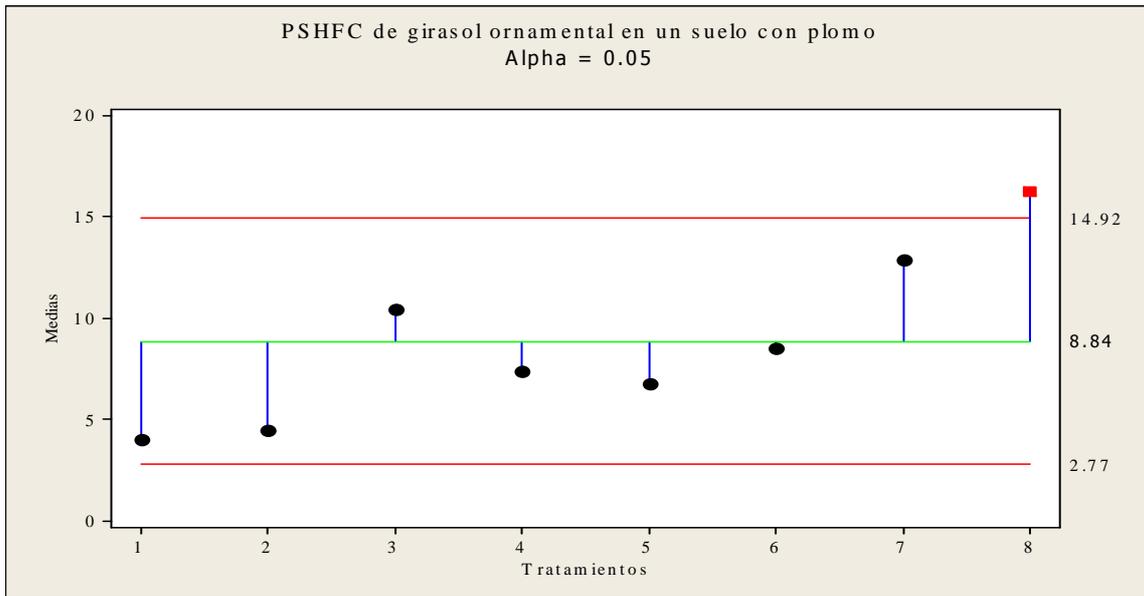


Figura 10. Prueba de medias de Tukey para el peso seco de hojas al final del ciclo de cultivo (PSHFC).

El valor mas bajo de materia seca de hojas fue para las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, donde se aplico el DTPA como agente quelatante, esto tiene relación con la variable altura de plantas y diámetro de tallos.

En la siguiente figura se pueden apreciar los valores medios de materia seca de hojas en gramos para cada tratamiento.

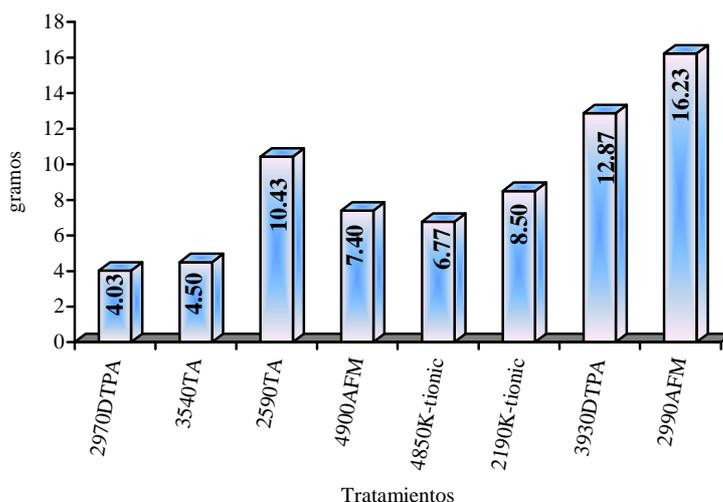


Figura 11. Peso de materia seca de hojas en gramos del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental, al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

El comportamiento del peso de materia seca en tallos, fue similar al peso de materia seca en hojas, dado que, los tratamientos también presentaron efectos altamente significativos (Cuadro 12), y el comportamiento fue similar (Figuras 10, 11, 12 y 13).

Cuadro 12. Análisis de varianza (ANVA) para peso de materia seca de tallos al final del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	1772.15	253.16	12.02	0.000 **
Repetición	2	11.57	5.78	0.27	0.764 NS
Error	14	294.98	21.07		
Total	23	2078.70			

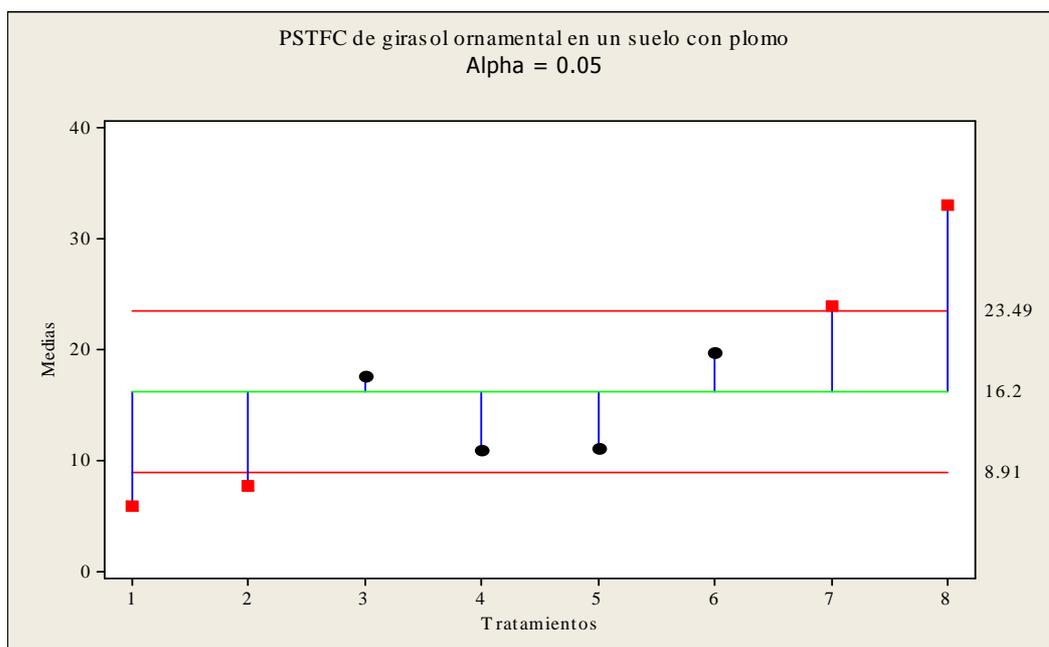


Figura 12. Prueba de medias de Tukey en el peso seco de tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

El máximo valor alcanzado de materia seca en tallos, fue de 33 gramos y se registró en las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, en el cual se usaron los AFM como agentes quelatantes, valor que superó al peso de materia seca de hojas para este mismo tratamiento. También es importante mencionar que la menor cantidad de materia seca en tallos se registró en el suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y en donde se uso el DTPA como agente quelatante (Figura13).

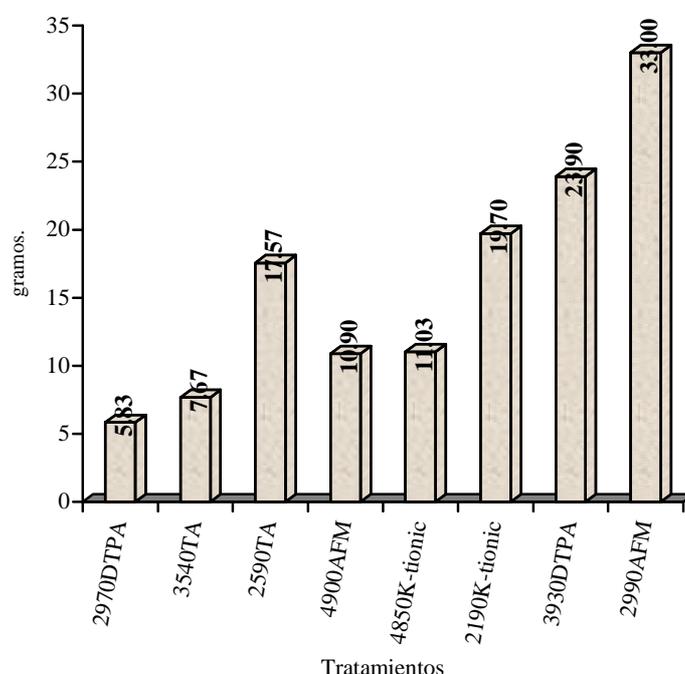


Figura 13. Peso de la materia seca de tallos en gramos del cv. “Sunbrigh” de girasol ornamental, cultivado en un suelo contaminado con plomo.

En la Figura 14 se muestran los gramos de materia seca para cada tratamiento. En ella se observa que, al igual que los resultados obtenidos de materia seca en tallos y materia seca en hojas al final del ciclo, con la adición de los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo tuvo el valor mas alto de materia seca de tallos y hojas a mitad del ciclo de cultivo con 1.3 g, el cual superó a los datos obtenidos en los demás tratamientos (Figura 14).

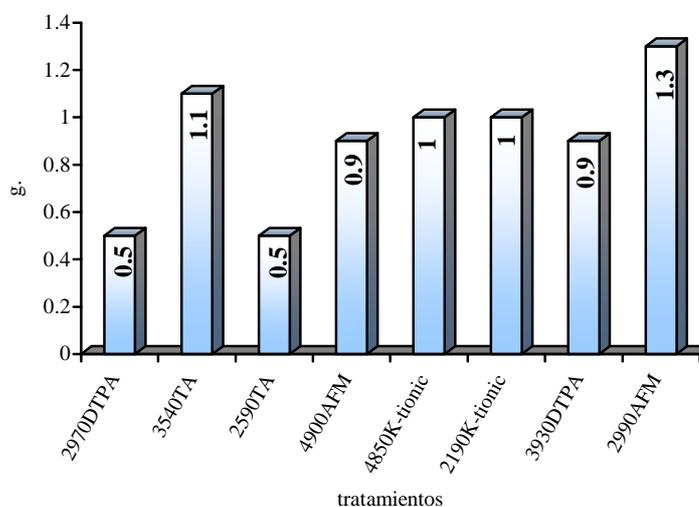


Figura 14. peso de materia seca en gramos de tallos y hojas (vástago) a la mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.

Los tratamientos presentaron efectos significativos para el peso seco de capítulos de girasol ornamental (Cuadro 13). El tratamiento que supero a los demás, para esta variable, fue el ocho, el cual corresponde a las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo en donde se usaron los AFM como agente quelatante. (Figura 15).

Cuadro 13. Análisis de varianza (ANVA) para el peso seco de capítulos del cv. “Sunbrighth” girasol ornamental cultivado en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	1756.26	250.89	4.29	0.010 *
Repetición	2	52.99	26.49	0.45	0.645 NS
Error	14	819.55	58.54		
Total	23	2628.79			

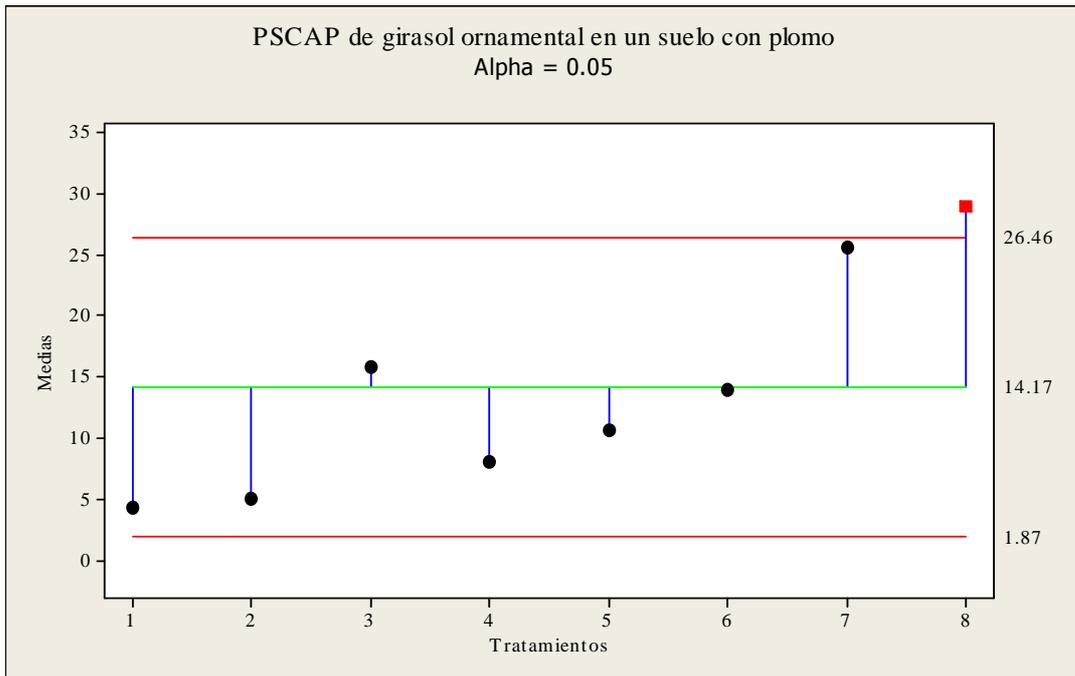


Figura 15. Prueba de medias de Tukey para el peso seco de capítulos de girasol ornamental cultivado en suelos contaminados con plomo.

Al agregar los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, la diferencia en peso seco de capítulo fue mínima (29.1 g), con respecto a la aplicación del DTPA en el suelo con 3930 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo (25.77); además, el valor mas bajo de peso seco de capítulo, es el que corresponde al suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y donde se uso el DTPA como agente quelatante. (Figura 16).

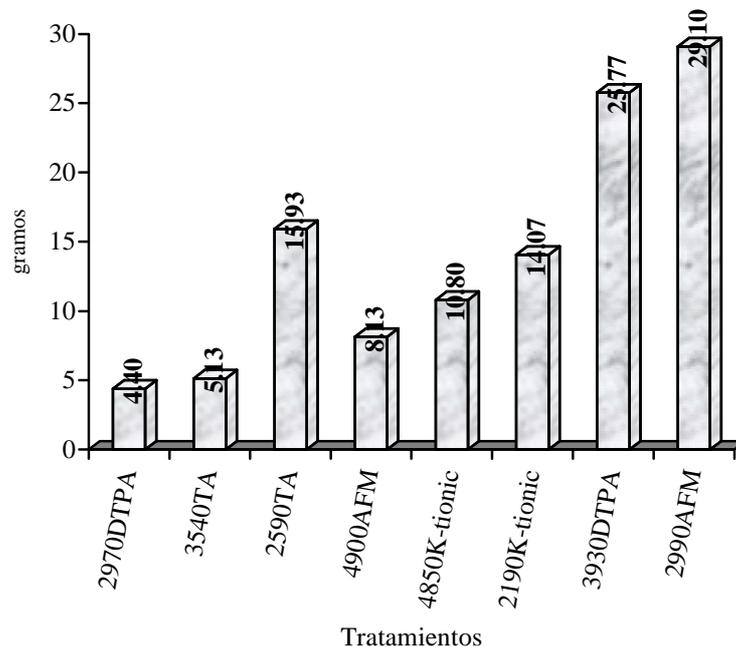


Figura 16. Peso seco de capítulos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en gramos, cultivado en suelos contaminados con plomo.

### Variables de Absorción de Plomo

#### Plomo en Hojas y Tallos a Mitad del Ciclo de Cultivo

El valor mas alto de acumulación de plomo en las plantas a esta etapa del cultivo fue de 0.07 mg lo cual se presentó al adicionar los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo (Figura 17).

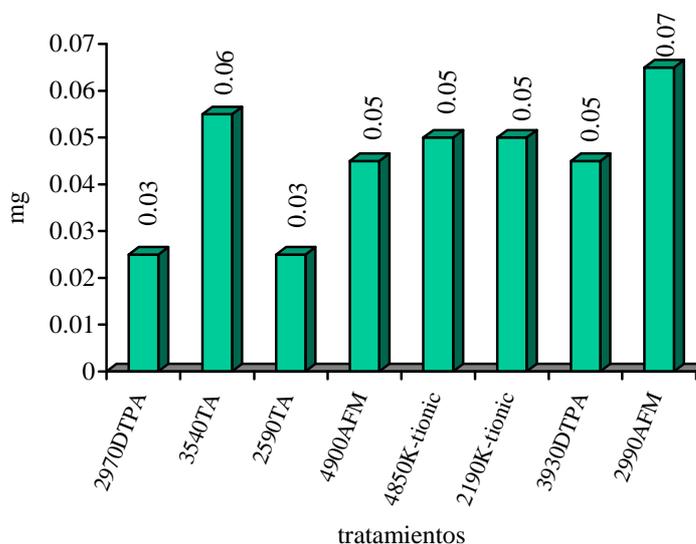


Figura 17. Promedio de acumulación total de plomo por planta en tallos y hojas (vástago) a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” en un suelo contaminado con plomo.

Las plantas establecidas en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y adicionados con los AFM, fueron las que acumularon mayor cantidad de plomo en sus hojas y tallos, en esta fase del cultivo. Esto coincide con la cantidad de materia seca que presentaron

las plantas en esta etapa, sin embargo, la diferencia con el testigo absoluto (3540 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo), fue mínima.

Cuadro14. Plomo total acumulado en tallos y hojas de cada planta a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” en un suelo contaminado con plomo.

Tratamientos	Pb total acumulado en tallos y hojas por planta (mg).
2970DTPA	0.025
3540TA	0.055
2590TA	0.025
4900AFM	0.045
4850K	0.05
2190K	0.05
3930DTPA	0.045
2990AFM	0.065

En el siguiente cuadro se muestran las cantidades de plomo en mg kg<sup>-1</sup> en el suelo a la mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental.

Cuadro 15. Plomo en suelo a mitad del ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”

Tratamiento	Mg de Pb Kg <sup>-1</sup> de suelo
2970DTPA	2695
3540TA	2880
2590TA	2195
4900AFM	3500
4850K	2875
2190K	1895
3930DTPA	2615
2990AFM	2345

De acuerdo con el análisis de varianza, los tratamientos no ejercieron ningún efecto estadístico significativos para la concentración de plomo en tejido vegetal de follaje (Cuadro 16), sin embargo, en la prueba de medias se observan diferencias muy marcadas (Figura 18).

Cuadro 16. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de plomo en tejido vegetal de follaje del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	24812	3545	2.18	0.102 NS
Repetición	2	261	130	0.08	0.923 NS
Error	14	22773	1627		
Total	23	47845			

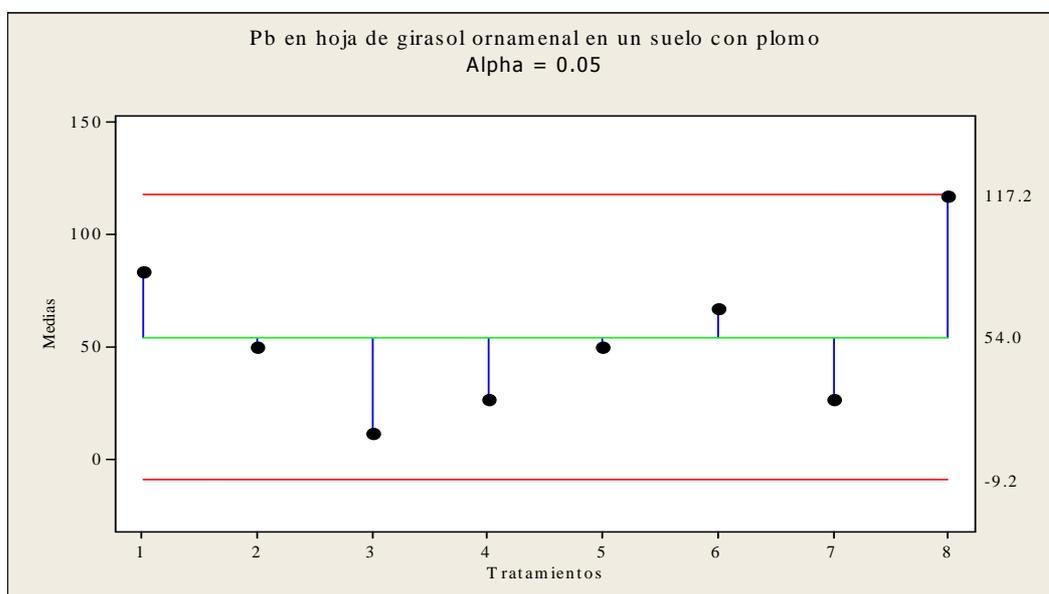


Figura 18. Prueba de medias de Tukey para las concentraciones de plomo en las hojas del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental en un suelo contaminado con plomo.

La mayor concentración de plomo en el tejido vegetal de follaje del girasol fue de 116.67 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de materia seca, lo cual se presentó al adicionar los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo; superando a los demás tratamientos.

La concentración de Pb en el tejido vegetal de follaje de las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2970 mg de plomo  $\text{kg}^{-1}$  de suelo donde se uso el DTPA como agente quelatante, no fue tan bajo, como sucedió con las variables agronómicas. La menor concentración de plomo en hojas se presentó en el testigo absoluto en el suelo contaminado con 2590 mg de plomo  $\text{kg}^{-1}$  de suelo (Figura 19).

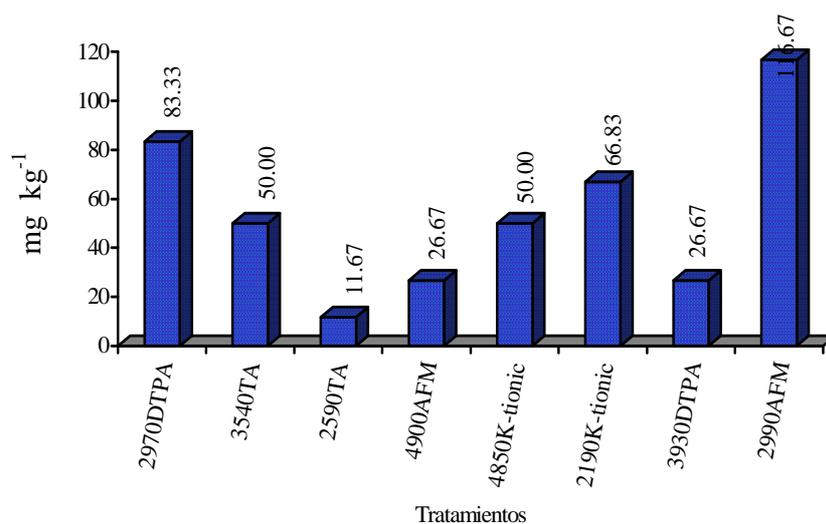


Figura 19. Concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de plomo en hojas de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

Dado que en el tratamiento correspondiente al suelo contaminado con 2990 mg de Pb  $\text{kg}^{-1}$  de suelo y donde se aplicaron los AFM como agente quelatante, se tuvieron los máximos valores de materia seca, el factor de biodisponibilidad del metal, en mg de Pb en el tejido vegetal de follaje por planta, es mayor en este tratamiento. (Figura 20).

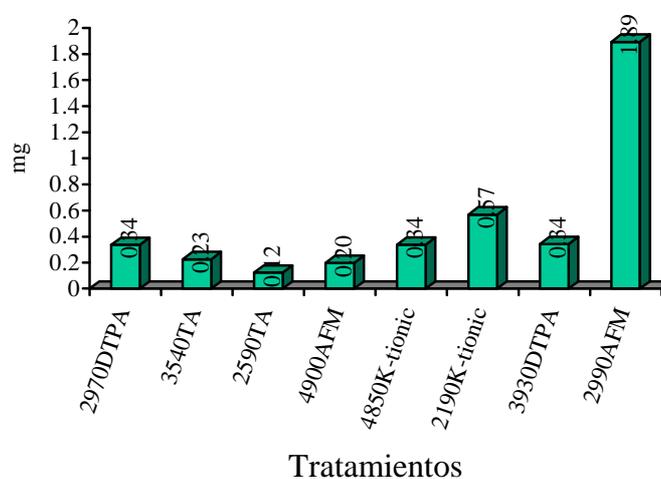


Figura 20. Acumulación de plomo total en hojas (mg) al final del ciclo del cv. “Sunbrighth” de girasol ornamental sembrado en un suelo contaminado con plomo.

La mayor acumulación de plomo en el tejido vegetal de follaje fué de 1.89 mg y se presentó al adicionar los AFM al suelo contaminado con 2990 mg de plomo  $\text{kg}^{-1}$  de suelo, al superar significativamente a los demás tratamientos incluyendo a las plantas que fueron cultivadas en el suelo contaminado con 4900 mg de plomo  $\text{kg}^{-1}$  de suelo y donde también se aplicaron los AFM.

La menor acumulación de plomo en tejido vegetal de follaje de las plantas de girasol fue de 0.12 mg lo cual se registró en el testigo absoluto en el suelo contaminado con 2590 mg de plomo  $\text{kg}^{-1}$  de suelo. Esto se debe a que en ese tratamiento se presentó el valor mas bajo de concentración de plomo.

Los tratamientos y las repeticiones ejercieron efectos significativos para la concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje (Cuadro 17), lo que significa que la concentración de éste elemento en el tejido vegetal de follaje de girasol, fue diferente en cada tratamiento (Figura 21).

Cuadro 17. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje de girasol ornamental cv. “Sunbrighth”, cultivado en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	3207.3	458.2	3.65	0.019 *
Repetición	2	1408.3	704.2	5.61	0.016*
Error	14	1758.3	125.6		
Total	23	6374.0			

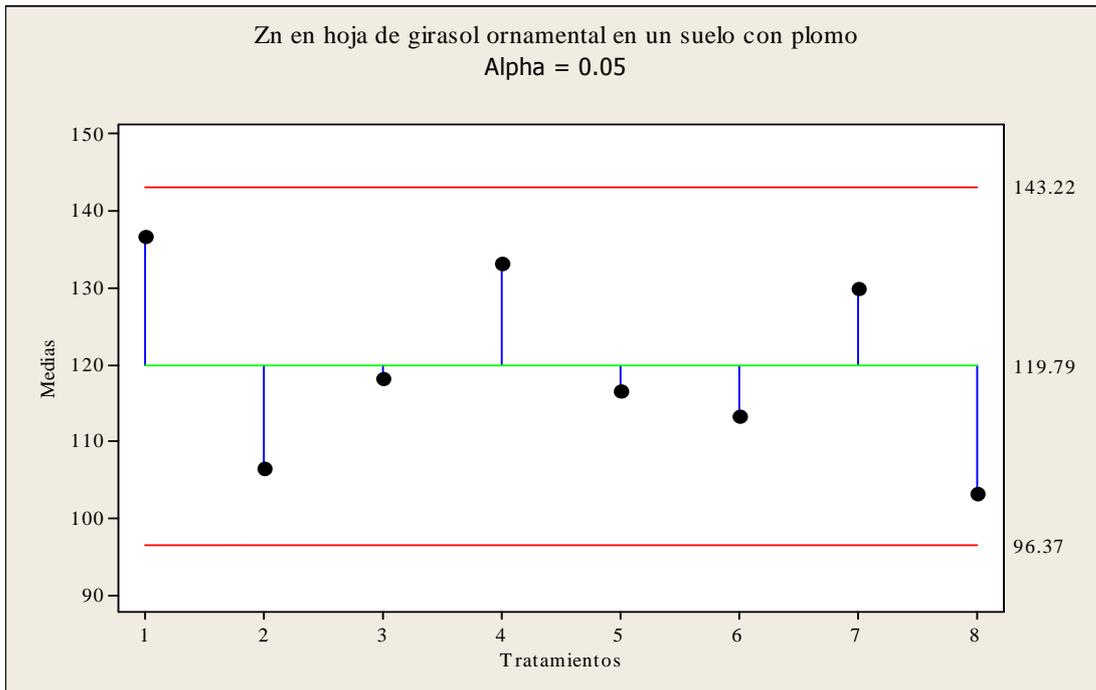


Figura 21. Prueba de medias de Tukey para la concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje de girasol ornamental cv. “Sunbrigh”, en un suelo contaminado con plomo.

La mayor concentración de Zn en el tejido vegetal de follaje fue de 136.67 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de materia seca de follaje, la cual se presentó en las plantas cultivadas en el suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y donde se adicionó el DTPA como agente quelatante; aquí es importante reconocer que la concentración mas baja de Zn se presentó en las plantas establecidas en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y donde se adicionó los AFM (Figura 22), siendo éstas últimas las que tuvieron mayor absorción de plomo en el tejido vegetal de follaje.

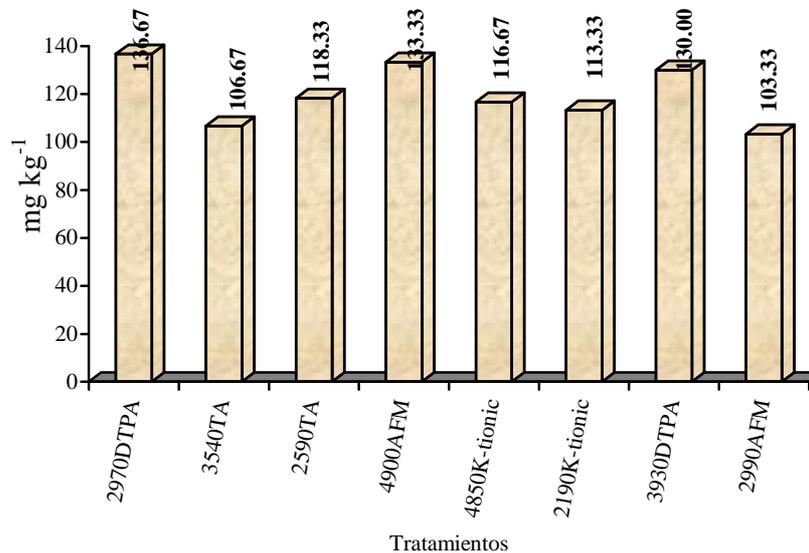


Figura 22. Concentración (mg kg<sup>-1</sup>) de cinc (Zn) en hojas de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

Para la concentración de plomo en tallos de girasol ornamental al final del ciclo de cultivo, los tratamientos ejercieron efectos significativos (Cuadro 18) y en la prueba de medias se ven esas las diferencias (Figura 23).

Cuadro 18. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	3932.3	561.8	2.90	0.043 *
Repetición	2	625.0	312.5	1.62	0.234 NS
Error	14	2708.3	193.5		
Total	23	7265.6			

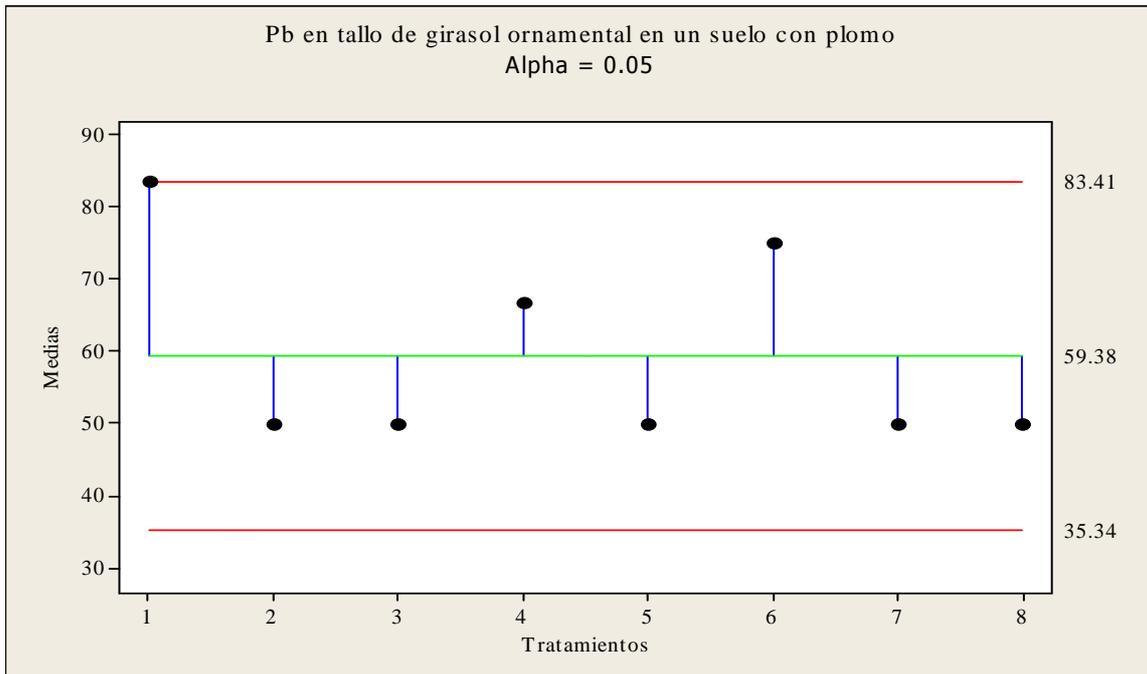


Figura 23. Prueba de medias de Tukey para la concentración de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo. La mayor concentración de plomo en tallos, fue de 83.33 mg kg<sup>-1</sup>, y se presentó al adicionar el DTPA en el suelo contaminado con 2970 mg de plomo kg<sup>-1</sup> de suelo. Para el caso del suelo contaminado con 3930 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y donde también se adicionó el DTPA la concentración de Pb en tallos de girasol fue igual que al adicionar los AFM en el suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, e igual al TA con los dos niveles de contaminación (Figura 24).

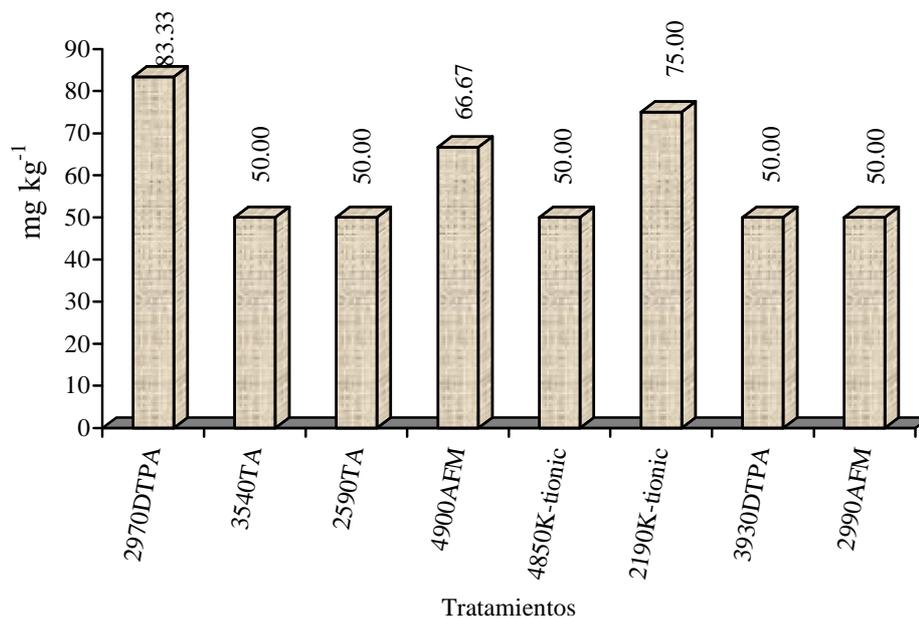


Figura 24. concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de plomo en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo.

Es importante mencionar que la acumulación total de plomo en tallo por cada planta de girasol fue mayor en el tratamiento que corresponde al suelo contaminado con  $2990 \text{ mg de Pb kg}^{-1}$  de suelo, a los cuales se le adicionó los AFM, el cual alcanzó un valor de  $1.65 \text{ mg}$  de plomo, esto se debe a que, como se vio anteriormente, ese tratamiento presentó los valores mas altos de materia seca de tallos.

En el caso de las plantas que presentaron la mayor concentración de plomo en el tallo (correspondientes al suelo contaminado con  $2970 \text{ mg de Pb kg}^{-1}$  de suelo y donde se adicionó el DTPA como agente quelatante), el factor de acumulación de plomo en tallos es bajo, de solo  $0.49 \text{ mg}$ , debido a que los valores de materia seca fueron bajos (Figura 25).

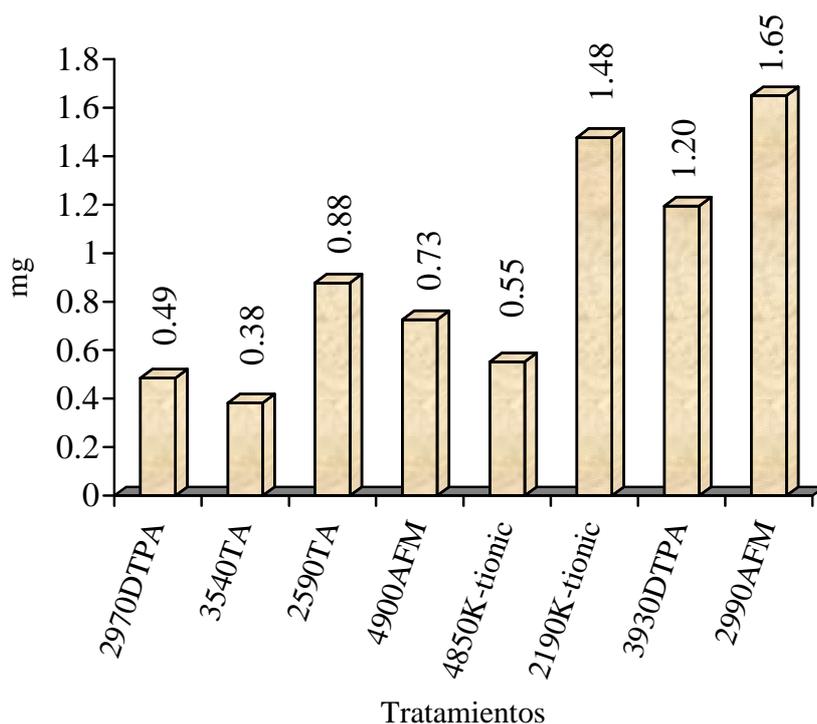


Figura 25. Acumulación de plomo total en tallos ( $\text{mg}$ ) al final del ciclo del cv. “Sunbrigh” de girasol ornamental sembrado en un suelo contaminado con plomo.

La concentración de Cinc en tallo de girasol ornamental, presentó diferentes valores en cada tratamiento; de acuerdo con en análisis de varianza, los tratamientos y las repeticiones ejercieron efectos significativos para ésta variable (Cuadro 19).

Cuadro 19. Análisis de varianza (ANVA) para la concentración de Zn en tallo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con plomo.

Fuente	g.l.	S. C.	C. M.	F	P
Tratamientos	7	1826.82	260.97	3.10	0.034 *
Repetición	2	592.19	296.09	3.52	0.058*
Error	14	1178.65	84.19		
Total	23	3597.66			

Las diferencias de medias se presentan en la figura 26.

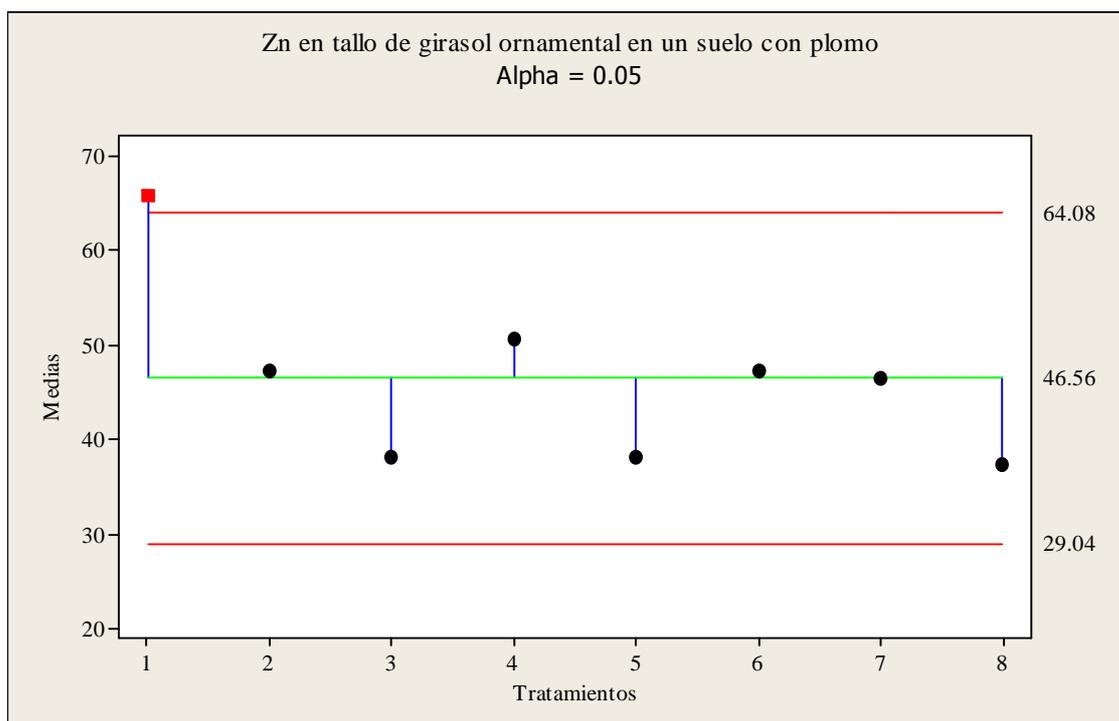


Figura 26. Medias de Tukey para la concentración de Zn en tallo de girasol ornamental cv. “Sunbrighth” al final del ciclo de cultivo en un suelo contaminado con Pb.

La mayor concentración de Zn en tallo fue de 65.83 mg k<sup>-1</sup> de materia seca de tallo, lo cual se logró con la adición de DTPA a un suelo contaminado con 2970 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo, superando considerablemente a los demás tratamientos.

El resultado mas bajo de concentración Zn en tallo fue de 37.50 mg kg<sup>-1</sup> de materia seca, y lo sostuvo el tratamiento correspondiente al suelo contaminado con 2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo y adicionado con los AFM (Figura 27).

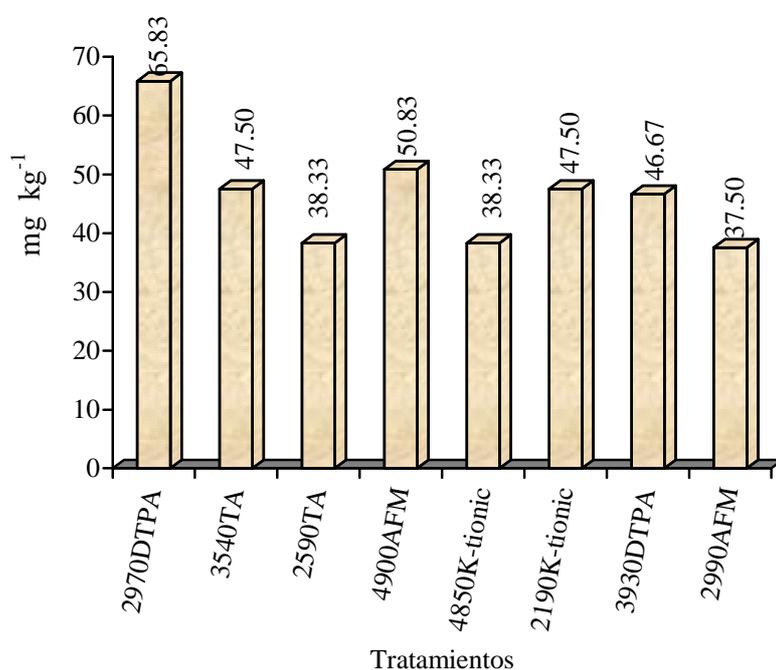


Figura 27. Concentración de Zn (mg kg<sup>-1</sup>) en tallos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh” al final del ciclo de cultivo, en un suelo contaminado con plomo.

En éste experimento no se encontró plomo en capítulos de girasol ornamental cv. “Sunbrigh”.

En el siguiente cuadro se presentan las cantidades de plomo y cinc medidas al suelo al final del ciclo de cultivo de girasol ornamental.

Cuadro 20. Plomo y Cinc en suelo al final de ciclo de cultivo de girasol ornamental cv. "Sunbrighth".

Tratamiento	mg de Pb Kg <sup>-1</sup> de suelo	mg de Zn Kg <sup>-1</sup> de suelo
2970DTPA	2600	90
3540TA	2220	30
2590TA	1800	50
4900AFM	2100	40
4850K	900	80
2190K	1600	40
3930DTPA	1300	80
2990AFM	1700	70

La mayor acumulación de plomo en hojas y tallos al final del ciclo de cultivo de girasol, que corresponde al tratamiento ocho (2990 mg de Pb kg<sup>-1</sup> de suelo + los AFM), fue de 3.54 mg de plomo por planta, si consideramos una densidad de población de girasol de 333333.33 plantas ha<sup>-1</sup>.y una cantidad de materia seca de 49.23 g por planta, en cada ciclo de cultivo, bajo estas condiciones, podemos extraer 2.74 kg de Pb ha<sup>-1</sup>. Ésta cantidad es relativamente baja, sin embargo los daños que puede ocasionar en el ambiente y en los seres humanos, son graves e irreversibles. Por otro lado, cave señalar que, según la literatura, el girasol es una rizofiltradora potencial de plomo y cinc, entre otros; lo que significa que la mayor cantidad de plomo se queda en la raíz y en éste experimento solo se analizó hojas, tallos y capítulos del girasol ornamental.

A manera de discusión, se puede establecer que los grupos funcionales libres (-COOH) de los AFM actuaron como ligantes naturales del plomo y posteriormente lo colocaron disponible para las plantas. Esto quiere decir que las sustancias húmicas están bien polimerizadas y bien

oxidados. Aquí es necesario considerar el número de cargas eléctricas negativas de las moléculas orgánicas, las cuales pudieron ser equilibradas por cargas positivas de los cationes (Fründ *et al.*, 1994).

En cuanto a la absorción de Zn las plantas que presentaron valores bajos fueron las del tratamiento ocho, lo cual se debe a un efecto antagónico creado entre el Zn y el Pb, ya que las plantas que concentraron la menor cantidad de plomo en sus tejidos, fueron las que concentraron la mayor cantidad de Zn y viceversa.

La gran importancia de precisar la química de la unión de metales traza con las sustancias húmicas, radica en la extensión de la complejación, la estabilidad de los complejos y el efecto de la formación de los complejos en propiedades como su solubilidad, pero, esto es un tema de bastante controversia. La AT es generalmente considerada como la que provee una adecuada medida de la habilidad de las sustancias húmicas para unirse con metales, sin embargo, existe la posibilidad de que grupos funcionales no oxigenados podrían estar involucrados (Harter y Naidu, 1995; Orlov, 1995; Schnitzer, 2000), además, aquí es necesario considerar la capacidad de intercambio catiónico de la raíz (Marschner, 1995).

## **CONCLUSIONES**

Los ácidos fúlvicos del compost complejan al plomo, permiten su movilidad dentro de la planta, y se acumula principalmente en el tejido vegetal de follaje de girasol ornamental.

Hay un efecto antagónico entre el cinc y el plomo, ya que las plantas que absorbieron cantidades mayores de plomo, presentan valores bajos de acumulación de cinc.

## LITERATURA CITADA

- Adani, F., P. Genevini, P. Zaccheo and G. Zocchi. 1998. The effect of commercial humic acid on tomato plant growth and mineral nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 21 (3): 561-575.
- Adriano, D. C. (1990). *Bioengineering of Trace Metals. Advances in Trace Substances Research*. Lewis, Boca Raton, Fl. 513.
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2005. *Reseña Toxicológica del Plomo (versión para comentario público) (en inglés)*. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- Amalfitano, C., R. A. Quezada., M. A. Wilson and J. V. Hanna. 1995. Chemical Composition of Humic Acids: A Comparison with Precursor "Light Fraction" Litter from different Vegetations Using Spectroscopic Techniques. *Soil Sci.* Vol. 159. N° 6 pags. 391-401.
- Alba, A. O. y Llanos, M. C., (1990). *El cultivo del girasol*. Ed. Agroguías Mundi-Prensa 41-55.
- Aleksandrova I., V. 1994. Interactions of structural units and the strength fixation in molecules of humic-like substances. *Eurasian Soil Science*, 26: 35-43.
- Avediz A. *Normal de la calidad de aire en México*. Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología, México, 1984.
- Baker, A.J.M., y Brooks, R.R., (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements-a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81-126.

- Baker, A.J.M., and Walker, P.L. (1997). Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants. In Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. 155-177.
- Baumann, A. (1985). Das Verhalten von Zinksätzen gegen Pflanzen und im Boden. Landwirtsch. Vers-Statn 73, 97-106.
- Bernal, M. P. 1997. Apuntes. Departamento de Conservación del Suelos y Aguas y Manejo de Residuos Orgánicos de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigación Científica. (CSIC). Murcia, España.
- Boye K. 2002 Phytoextraction of Cu, Pb and Zn a greenhouse study. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Soil Sciences. Suecia. Pag 7, 16.
- Brown, S.L., Chaney, R. L., Hallfrisch, J.G., y Qi Xue (2003). Effect of biosolids processing on lead bioavailability in an urban soil. Environ Qual 32, 100-108.
- Brooks, R.R. (1998). Plants that hyperaccumulate heavy metal. CAB International. 380.
- Brown, S.L., Chaney, R. L., Angle, J.S., Baker, A. J. M., (1995). Zinc and Cadmium Uptake by Hyperaccumulator *Thlaspi caerulencens* and Metal Tolerant *Silene vulgaris* Grown on Sludge-Amended Soil, Environ. Sci. and Technol. 29(6), 1581-1585.
- Blaylock, M. J., D. E. Salt, S. Dushenkov O., C. Gussman, Y. Kapulnik, B. D. Ensley and I. Raskin. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environ Sci. Tech.

- Bressler J, Goldstein WG. Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochem Pharmacol* 1991; 41: 479-84.
- Bressler J, Kyung-ah Kim, Tamal Ch, Goldstein G. Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochem Res* 1999;24:595-600.
- Cabrera, F., Clemente L., Díaz Barrientos, E. López R. y Murillo, J.M. (1999). Heavy metal pollution of soils affected by the Guadiamar toxic flood. *Sci Total Environ* 242 (1-3): 117-29.
- Cabrera, F., Murillo, J. M., López, R. (1999). Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar spill. *The Science of the Total Environment*, 242; 281-292.
- Carter, J. F.(1987). *Sunflower Science and Technology*. American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Agronomy Series. núm.19. Madison, Wisconsin, EE.UU.
- Conrad M, Barton J. Factors affecting the absorption and excretion of lead in the rat. *Gastroenter* 1978;74:731-40.
- Clemens, Stephan, Palmgren, Michael G., y Kramer, Ute. (2002). A long way ahead: underting and engineering plant metal accumulation. *TRENDS in Plant Science* 7 (7): 309-314.
- Chaudhry, T.M., Hayes, A.G., Khan, A.G., y Koo, C.S. (1998). Phytoremediation focusing on accumulator plants that remediate metal contaminated soil. *Australasian J. Ecotoxicol.* 56: 59-65.
- Chang LW, Wade PR. Prenatal and neonatal toxicology and pathology of heavy metals. *Advan Pharmacol Chemot* 1980; 17:195-231.

- Chaney, R. L., Mallik M., Li Y. M., Brown S.L., y Brewer E. P. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol* 8: 279-84.
- Chaney, R. L., Ryan, J.A., Li Y. M., y Brown S.L. (1999). Soil cadmium as a threat to human health. Pp. 219-256. In: M.J. McLaughlin and B.R. Singh (eds) *Cadmium in Soils and Plants*.
- Chaney, R.L., Ryan J.A., Li Y. M., y Angle J.S. (2000). Transfer of cadmium through plants to the food chain pp. 76-86. In: J.K. Syers and M. Gochfeld (eds) *Environmental Cadmium in the Food Chain*.
- Chen, B., Christie, P., y Li, L. (2001). A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza. *Chemosphere* 42, 185-192.
- Christie, P., Li, X., Chen, B.(2004). Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*, 261 (1-2), 209-217.
- Davies, F.T. Jr., Jeffrey D. Puryear, R. J. Newton, J. N. Egilla, J. A., y Saraiva, G. (2001). Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annus L.*). *Plant Physiol.* 158, 777-786.
- De Oliveira, F., Maria,V. P., y Narasimha, F. (1999). Feasible biotechnological and bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils. *Electronic Journal of Biotechnology* 20-34.
- Duschenkov, V., Kumar, N., Motto H., y Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Aqueous Streams. *Environmental Science and Technology* 29, 1239-1245.

- Ernst, W.H.O. (2000). Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation. *New Phytol* 146, 357-357.
- Evangelou, M. W. H. Hactice, D. Andreas, S. 2004. The Influence of Humic Acids on the Phytoextraction of Cadmium from Soil. *Chemosphere*. 57 207-213.
- FAO/UNESCO. 1994. World Reference Base for Soil Resources. Wageningen/Rome.
- Freitas, H., Prasad, M.N.V., y Pratas, J. (2004). Heavy metals in the plant community of Sao Domingo an abandoned mine in SE Portugal: Possible applications in mine remediation. *Environmental International*, 30 (1), 65-72.
- Fründ, R., k. Guggenberg, K. Haider, H. Knicker, I. Kögel-Knaber, H.-D. Lüdeman, J. Luster, W. Zech and M. Spiteller. 1994. Recent advances in the spectroscopic characterization of soil humic substances and their ecological relevance. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk*, 157: 175-186.
- Fuentes AL, Soto-Mora C. Influence of lead on pregnant women in metropolitan Mexico City. *Cont Toxicol* 1993; 53:553-9.
- Garbisu, C., y Alkorta, I. (1997). Bioremediation: Principles and Future. *J. Clean Technol., Environ. Toxicol. & Occup. Med.*, 6(4), 351-366.
- García, I. y C. Dorronsoro. 2004. Dinámica de Metales Pesados en Suelos. En: Contaminación por Metales Pesados. Apuntes. <http://edafología.ugr.es/conta/tema15/introd.htm>.
- Goering PL. Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology* 1993; 14: 45-60.

- Hall, J.L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 53 (366): 1-11.
- Harter, R. D. and R. Naidu. 1995. Rol of metal-organic complexation in metal sorption by soils, in *Advances in Agronomy*. (Ed.) D. L. Sparks, vol. 55: 219-263.
- Huang, J. W., Chen, J. J., Berti, W. B., y Cuninghan, S. D. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soil: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31, 800-805.
- Joint Program FAO/OMS. CODEX alimentary norms for fruit juice of concentrated fruit nectar of fruits. *Codex Alimentaras*, Vol. X, Ist ed. Rome: Food and Agricultural Organization, World Health Organization, 1995.
- Kabata Pendias, A. (1995). Agricultural problems related to extensive trace metal contents of soil. In: Salomons, W. V. Forstener C.P. Mader (eds) *Heavy metals, problems and solutions*. 3-18 Springer-Verlag, Berlin, Germany: 412.
- Kennish, M.J., (1992). *Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects*. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL McCullough, J., Hazen, T.C., Benson, S.M., Metting, F.B., and Palmisano, A.C. (1999). *Bioremediation of Metals and Radionucleids...What it is and how it works*. Office of Biological and Environmental Research of the U.S. Department of Energy's Office of Science. NABIR primer LBNL-42595. Available at: <http://www.lbl.gov/NABIR/primer>.
- Khan, A.G. (2001). Relationships between chromium biomagnification, ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent-polluted soil. *Environ. Int.* 26, 417-423.

- (Klaassen CD. Metales pesados y sus antagonistas. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9<sup>a</sup> edición. Editada por Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW y Goodman-Gillman AG. McGraw-Hill Interamericana, 1996).
- Kloke, A. (1980). Richwere´80, Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturböden, Mitt VDLUFA, H. 2, 9-11.
- Kononova M.M. (1961). Soil organic matter. Its nature, its role in soil formation and in soil fertility. Pergamon Press. Oxford.
- Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, V. Motto, H., y Raskin, I. (1995). Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology* 29 (5): 1232 (7).
- Kuiters, A. T. and W. Mulder. 1993. Water-soluble organic matter in forest soils. II. Interference with plant cation uptake. *Plant and Soil*, 152: 225-235.
- Lacasaña M, Romieu I, McConnell R, y Grupo de trabajo sobre plomo de la OPS. El problema de exposición al plomo en América Latina y el Caribe. Metepec, Estado de México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud/Organización Panamericana de la Salud, 1996:2-3.
- Landrigan PJ, Carlson JE, Bearer CF, Cramner JS et al. Children's health and the environment: A new agenda for prevention research. *Environ Health Perspect* 1998; 106 Suppl 3: 787 – 794.
- Lasat, M.M. (2002). Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*. 31(1): 109-120.

- Leyval, C., Weissenhorn, I., Glashoff A., y Berthelin, J., (1994) Influence des metaux lourds sur la germination des spores de champignons endomycorrhizien a arbuscules dans les sols. *Acta Botanica Gallica* (in press)
- Leyval, C., Joner, E., Del Val, C., y Haselwandter. K. (2001). Potencial of arbuscular mycorrhiza for bioremediation. *Mycorrhiza*. 7 (2): 308-317.
- Li, Yin-M., Chaney, R., Brewer, E. P., Angle, J.S., y Nelkin, J. (2003). Phytoextraction of nikel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminantes soils. *Environ. Sci. Technol* 73, 1463-1468.
- Linehan, D. J. 1976. Humic acid and iron uptake by plants. *Plant and Soil* 50: 663-670.
- Lloyd, J. R., y Lovley, D.R. (2001). Microbial detoxification of metals and radio nuclides, *Current Opinion in Biotechnology* 12, 248- 253.
- López, C. R. 2002. Comportamiento de Substancias Húmicas de Diverso Origen en al Física de un Suelo Limo-Arcilloso y en la Fisiología del Tomate. Tesis Doctoral en Sistemas de Producción. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Lovley, D. R., y J. D. Coates. (1997). Bioremediation of metal contamination. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8, 285-289
- Macek, T., Mackova M. Kas J. (2000). Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnology Advances*. 18(1), 23-34.
- Martin, H. W., Young, T.R., Kaplan, D.I., Simon, L., y Adriano. D.C. (1996). Evaluation of three herbaceous index plant species for bioavailability of soil cadmium, chromium, nickel and vanadium. *Plant Soil* 182, 199-207.

- Martin, C.W. (2000). Heavy metals trends in floodplain sediments and valley fill. *Catena* 39, 53-68.
- Markovac J, Goldstein GW Lead activates protein kinase C in immature rat brain microvessels. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 96: 14-13.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, Second edition. Academic Press Limited. London, U.K.
- McGrath, S.P., Lombi, E., Zhao, F.J., y Dunham, S. J. (2001). Phytoremediation of heavy metal-Contaminated Soils: Natural Hyperaccumulation versus Chemically Enhanced Phytoextraction. *Journal of Environmental Quality* 30 (6): 1919-1926.
- Meagher, R. B. (2000). Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Currente Oponion in Plant Biology* 3:,153-162.
- Minguzzi, C., Vergnano O. (1948). Il contenuto di nichel Nelly cenri di *Alyssum bertlonii* Desv. *Tai della Societa Toscana di Science Naturali, Men Ser A* 55, 49-77.
- Orlov, D. S. 1995. *Humic Substances of the Soil and General Theory of Humification*. A. A. Balkema, Publishers, Old Post, Road, Brookfield, VT. USA.
- Peters, R. S. y Shem, I. (1994). Use of chelating agents for remediation of heavy metal contaminates soil. In *Environmental Remediation Removing Organic and Metal Ion Pollutants*. 12 (3): 89-97.
- Pettit. 2004. *Organic matter, Humate, Humic acid, Fulvic acid and Humin: Their Importance in Soil Fertility and Plant Health*. Huma Tech. Inc. Makers of Promax.  
<http://www.humate.info/>

- Prasad, M.N.V., y Freitas, H. (2003). Metal hyperaccumulation in plants-biodiversity prospecting for phytoremediation Technology Electronic Journal of Biotechnology 54 (11), 25-42.
- Raskin, I., Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, S., y Salt, D.E. (1994). Bioconcentration of heavy metals by plants. Current Opinion in Biotechnology 5, 285-290.
- Raskin, I. (1995). Phytoextraction-The use of plants to remove heavy metals from soil. Environmental Science Technology. 29, 1232- 1238.
- Raskin, I., Smith, R.D., y Salt, D. E., (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. Current Opinion in Biotechnology 8, 221-22.
- Reeves, R. (2003). Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. Plant and Soil 249, 57-65.
- Romiew I, Palazuelos E, Hernández A, Ríos C, Muñoz I, Jiménez C, Caheron G. Sources of lead exposure in Mexico City. *Env Health Perspect* 1994;102: 384-9.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, PBAN., Viatcheslav, D., y Ensley, B. D. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Bio-Technology 13, 468-74.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, PBAN., Dushenkov, S. Ensley, B. D., Chet, I. Raskin, I. (1997). Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from environments using plants. Bio/ Tech, 13, 468-474.
- Salt, D.E., Smith, R.D., y Raskin, I. (1998). Phytoremediation. Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49,643-668.

- SEMARNAT. 2005. PROY-NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Diario Oficial. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Viernes 11 de noviembre de 2005. México D.F. Pag 19, 20, 25, 23.
- Shahandeh, H., Hossner., L.R. (2000). Plant screening for chromium phytoremediation. *International J. Phytoremediation*. 2, 269-286.
- Schnitzer, M., and H. R. Schulten. 1995. Analysis of Organic Matter in Soil Extracts and Whole Soils by Pyrolysis-Mass Spectrometry. *Advances in Agronomy*, Vol. 55:167-217.
- Schnitzer, M. and U. C. Gupta. 1965. Determination of acidity in soil organic matter. *Soil Science Society American Proceeding*. 29: 274-277.
- Schnitzer, M. 1978. Humic Substances: Chemistry and Reactions: in *Soil Organic Matter* (Ed.) Schnitzer and Khan. Elsevier, Amsterdam.
- Schnitzer, M. 2000. Life Time Perspective on the Chemistry of Soil Organic Matter. D. L. Sparks (Ed.). *Advances in Agronomy*, Academic Press. 98: 3-58.
- Schmitt, H. W., y Sticher, H. (1991). Heavy metals compounds in the soil. In: Marina, E. (ed): *Metals and their Compounds in the Environment*, VCH Verlagsgessellschaft Weinheim, Germany, pp. 312-331.
- Schweinsberg F, Ven Karsa L. Heavy metal concentrations in humans. (*Comp Biochem Physiol* 1990; 95:117-20).
- Stevenson, F. 1982. *Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions*. Wiley, New York, USA.

- Stevenson, F. L. and M. Schnitzer. 1982. Transmission Electron Microscopy of Extracted Fulvic and Humic Acids. *Soil Sci.* 133: 179-185.
- Sorge, C., M. Schnitzer, P. Leinweber and H.-R. Schulten. 1994. Molecular-Chemical characterization of organic matter in whole soil and particle-size fractions of a spodosol by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Soil Sci.* Vol. 158, N° 3 pags. 189-203.
- The National Academy of Sciences Committee on Measuring Lead in Critical Populations. Measuring lead exposure in infants children and other critical populations. Washington DC: National Academy Press, 1993
- Valdés, P. F. y V. M. Cabrera M. (1999). LA CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO. En *Defensa del Ambiente*, A. C. Texas Center for Policy Studies- CILADHAC. Primera Edición.
- Wang. 1996. Influence of fulvic acid on bioavailability and toxicity of selenite for wheat seedling and growth. *Biologicaltrace Element Research.* 55: 11-2, 147-162.
- Watanabe, M.E. (1997). Phytoremediation on the brink of commercialisation. *Environ, Sci. Technol.* 31, 182-186.
- Yano, Y., W. H. McDowel and N. E. Kinner. 1998. Quantification of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Soil Solution with Flow-Through Bioreactors. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 1556-1564. Wang, Z., Y. Xu and Z.
- Zhang, Q, Davis, L.C., y Erick, L.E. (2000). Heavy metal. In: *Hazardous Substance Res.* 2 (4):1

Paginas de Internet

<http://es.wikipedia.org/wiki/Plomo>