

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA**

DEPARTAMENTO DE CIENCIA DEL SUELO



**FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO DE DOS SUELOS CONTAMINADOS
UTILIZANDO ESPINACA Y TRES AGENTES QUELATANTES**

POR:

FELICITA RAMÍREZ PÉREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Saltillo, Coahuila, México.
Marzo 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

Fitoextracción de plomo de dos suelos contaminados utilizando
espinaca y tres agentes quelatantes

POR:

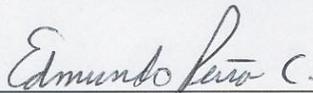
FELICITA RAMIREZ PEREZ

TESIS

Que se somete a consideración de H. jurado examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

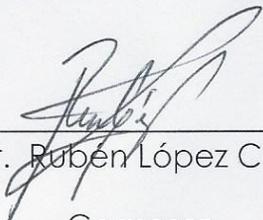
INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Aprobada por:

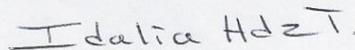


Dr. Edmundo Peña Cervantes

Asesor Principal


Dr. Rubén López Cervantes

Coasesor



M.C. Idalia María Hernández Torres

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"

Coasesor


Dr. Luis Samaniego Moreno

Coordinador de la División de Ingeniería


**Coordinación de
Ingeniería**

Saltillo, Coahuila, México.

Marzo 2015

INDICE

INDICE-----	i
INDICE DE CUADROS-----	iii
INDICE DE FIGURAS -----	iii
AGRADECIMIENTOS -----	iv
RESUMEN-----	v
INTRODUCCIÓN -----	1
OBJETIVOS -----	4
HIPOTESIS-----	4
REVISIÓN DE LITERATURA-----	5
Metales Pesados-----	5
Plomo (Pb)-----	7
Contaminación del Suelo Por Metales Pesados-----	8
Contaminación Por Plomo-----	10
Sustancias Húmicas-----	12
EDTA-----	13
Fitorremediación-----	14
Fitoextracción -----	18
Fitoextracción de Plomo-----	20
Espinaca (<i>Spinacia oleracea</i> L.)-----	21
Requerimientos del Cultivo -----	23
Suelo -----	23
Clima -----	23
Humedad -----	23
Mantenimiento del Cultivo -----	24
Siembra-----	24
Cosecha -----	24
MATERIALES Y METODOS-----	25
Localización del Área del Experimento-----	25
Metodología-----	26

Interpretación de Resultados -----	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	29
Primera Evaluación-----	29
Segunda Evaluación -----	34
CONCLUSIÓN-----	39
BIBLIOGRAFÍA -----	40

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de diferentes elementos contaminantes en el suelo (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004)-----	9
Cuadro 2. Características determinadas en los suelos y métodos-----	27
Cuadro 3. Características y resultados de los suelos -----	27
Cuadro 4. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un andosol -----	29
Cuadro 5. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un calcisol-----	30
Cuadro 6. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un andosol-----	31
Cuadro 7. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un calcisol-----	33
Cuadro 8. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un andosol-----	34
Cuadro 9. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un calcisol-----	36
Cuadro 10. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un andosol-----	37
Cuadro 11. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un calcisol-----	38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fuentes de contaminación de plomo para el ambiente. (Pallavi y Rama, 2005)-----	11
Figura 2. Procesos involucrados en la fitorremediación del suelo-----	16
Figura 3. Fitoextracción de metales. (Alkorta <i>et al.</i> , 2004)-----	20
Figura 4: Localización del área de experimento-----	25
Figura 5. Fitoextracción de plomo en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	30
Figura 6. Fitoextracción de plomo en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	31
Figura 7. Fitoextracción de hierro en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes -----	32
Figura 8. Fitoextracción de hierro en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	33
Figura 9. Fitoextracción de plomo en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	35
Figura 10. Fitoextracción de plomo en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	36
Figura 11. Fitoextracción de hierro en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	37
Figura 12. Fitoextracción de hierro en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes-----	38

AGRADECIMIENTOS

A dios

Por darme la vida y la oportunidad de terminar mis estudios.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Por darme el privilegio de estudiar en esta institución y por todo el apoyo brindado a lo largo de mi carrera.

Asesores

Al Dr. Edmundo Peña Cervantes, M.C. Idalia María Hernández Torres y al Dr. Rubén López Cervantes, por su paciencia y apoyo brindado para el desarrollo de este proyecto.

A mis padres

Aron Ramírez Zúnun y Andrea Pérez Morales, por su apoyo moral y económico, porque siempre estuvieron conmigo en los momentos tristes y alegres de mi vida. Por darme sus buenos consejos y ejemplos de superación. Siempre me impulsaron a seguir adelante hasta en los momentos más difíciles de mi formación profesional. En parte esta meta alcanzada es gracias a ellos.

A mis hermanos

Lilia Noelia, Hortencia, Eliceni, Imer, Jesús Aron y Luz, gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y por darme sus palabras de motivación a continuar con mi estudio y concluirla.

A mi cuñada

Martha Patricia por el apoyo moral brindado durante mis estudios.

A mis amigos

Fani, Keli, Areli, Daniela, Belinda, María del Carmen, Icela, Dulce, Amada, Dulce Olivia, Idma, Ramiro, Gilbert, Carlos, por tener una linda amistad durante estos años de preparación, porque fueron mi segunda familia en esta casa de estudio.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad de tres agentes quelatantes y la espinaca, en la fitoextracción de plomo de dos suelos contaminados, se colectaron en macetas un Andosol y otro Calcisol y se contaminaron con 1000 mg kg^{-1} de plomo. Se sembraron tres semillas de espinaca variedad monstruosa viroflay, por cada maceta que contenían cinco kilogramos de ambos suelos y se les adicionaron 60 ml de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un ácido húmico (AH) y uno fúlvico (AF) y como testigo, agua. La espinaca se colecto en dos ocasiones. Las variables medidas fueron el plomo (Pb) y el hierro (Fe) al tejido vegetal de follaje. Se encontró que el EDTA extrajo la mayor cantidad de plomo, en la primera evaluación en el Andosol con 436 mg kg^{-1} y en el Calcisol con 1166 mg kg^{-1} ; en la segunda evaluación con 206 mg kg^{-1} y 145 mg kg^{-1} respectivamente, en la primera evaluación de hierro, el ácido fúlvico extrajo la mayor cantidad en el Andosol con 257 mg kg^{-1} y en el Calcisol con 125 mg kg^{-1} ; en la segunda evaluación se obtuvo mayor extracción con el ácido húmico de 245 mg kg^{-1} en un Andosol y el testigo con 345 mg kg^{-1} en un Calcisol. Se concluye que con el agente quelatante EDTA, se extrajo la mayor cantidad de plomo, en ambas evaluaciones; mientras que la extracción de hierro, en la primera evaluación, fue superior con los ácidos fúlvicos y en la segunda con los ácidos húmicos.

Palabras claves: *Spinacia oleracia* L.; quelatos; fitorremediación

Correo electrónico: felicita ramirez perez kranzi_070@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La contaminación se refiere a la introducción o incremento anormal de sustancias que pueden ejercer un efecto dañino sobre los organismos en los ecosistemas. A veces la contaminación es de origen natural, pero en lo general, está relacionada con la actividad del hombre, que en su búsqueda de supervivencia y bienestar dispersa sustancias agresivas, algunas de las cuales pueden ser transformadas por los organismos (biodegradables y otras que son persistentes no biodegradables) (Bautista, 1999).

Según Volke y Velasco (2002), reportan que en México existen actualmente una gran cantidad de sitios contaminados con diferentes tipos de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, debido principalmente a las actividades industriales, minera y petroquímica, además de la disposición clandestina y derrames de residuos peligrosos. El número de sitios contaminados, aún en las estimaciones más conservadoras, asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial es desconocido. De acuerdo con datos publicados por INEGI (2000), la superficie de suelo degradado por causas de contaminación en 1999 fue de 25,967 km².

El manejo inadecuado de los materiales y residuos peligrosos ha provocado en el mundo un grave problema de contaminación de los suelos y los cuerpos de agua. En México, la industria del petróleo en su conjunto ha tenido un impacto negativo en materia ambiental. Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo, no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los productos petroquímicos básicos. El problema de los suelos contaminados con hidrocarburos radica en que hasta hace pocos años no existía conciencia del grado de la dificultad y el costo que representa la remediación de los suelos y

cuerpos de agua contaminados para la sociedad, por lo que es más caro remediar que prevenir (Saval 1995).

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

Unas de las tecnologías para resolver problemas de contaminación por metales pesados es la fitorremediación de suelos, esta técnica se basa en un conjunto de plantas, enmiendas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo (Chaney *et al.*, 1997). Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes; además, el proceso se realiza 'in situ' evitando costosos transportes (Cunningham *et al.*, 1995).

Debido a los problemas de contaminación ambiental en México que se está generando por las diversas actividades del ser humano, especialmente aquellas relacionadas con la minería, disposición de desechos industriales, utilización de agroquímicos etc, estas actividades provocan graves problemas al suelo y a la salud humana. Por lo tanto es necesario reducir los niveles de contaminación, aplicando técnicas de remediación de suelos, una de ellas

menos costosas y efectivas es la fitorremediación que aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo.

En el presente estudio se evaluará la capacidad de la *Spinacea oleracea L*, para fitoextraer el plomo de dos suelos contaminados y usando como agentes quelante el EDTA, los ácidos húmicos y fúlvicos. Según literaturas citadas las principales limitaciones que tiene la fitoextracción es la biodisponibilidad de los metales pesados para ser absorbidos por la planta y una de las formas más comunes para corregir esta deficiencia es la adición de agentes quelatantes.

OBJETIVOS

Determinar la fitoextracción de plomo de dos suelos contaminados, con el uso de espinaca y tres agentes quelatantes.

HIPOTESIS

Al menos un agente quelatante, tiene efecto positivo en la fitoextracción de plomo en dos suelos contaminados.

REVISIÓN DE LITERATURA

Metales Pesados

Saad *et al.* (2009), señalan que el término metal pesado se aplica a los elementos químicos que tienen una densidad relativa alta y son tóxicos en bajas concentraciones. Algunos ejemplos de metales pesados son el cromo, el arsénico, el plomo, el mercurio y el cadmio. Los metales pesados se pueden acumular en el cuerpo humano por un periodo relativamente amplio.

Se considera metal pesado a aquel elemento con densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando esta en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su concentración promedio en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos denominados metaloides y no metales que suelen englobarse con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es el caso del As, Sb, B, Ba y Se (García y Dorransoro, 2001).

Los metales pesados se encuentran generalmente como componentes naturales de la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos. No pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos (Abollino *et al.*, 2002).

En la actualidad el uso de metales pesados se ha incrementado en forma alarmante, lo cual está asociado con el crecimiento explosivo de la población y con el desarrollo tecnológico mal planeado. Esta utilización excesiva ha provocado un aumento en la concentración basal de casi todos estos elementos y ha roto así sus ciclos biogeoquímicos naturales (Who, 1992).

Desde el punto de vista químico, los metales pesados se aplica al grupo de elementos químicos con una densidad mayor de 6 Mg m^{-3} (Alloway, 1995), estos elementos son absorbidos por las plantas cultivadas y asimilados o depositados en las mismas; posteriormente al ser consumidos por animales y personas, llegan a producir trastornos metabólicos. (Kabata y Pendias, 1992).

McBride (1994), considera que entre los metales pesados más estudiados encontramos a elementos no esenciales para los vegetales como: plomo (Pb), cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg) y algunos micronutrientes esenciales como: cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe), manganeso (Mn); además de esos elementos, también están citados el níquel (Ni) y el cobalto (Co) considerados útiles en el desarrollo vegetal.

Como elementos traza, algunos metales pesados por ejemplo, cobre (Cu), selenio (Se), zinc (Zn) son esenciales para mantener un correcto metabolismo en los seres vivos y en particular en el cuerpo humano. Sin embargo, en concentraciones más altas pueden conducir al envenenamiento. El envenenamiento por metales pesados podría resultar, por ejemplo, de la contaminación del agua potable (tuberías de plomo), las altas concentraciones en el aire cerca de las fuentes de emisión o producto, vía la cadena alimenticia (Kabata y Pendias, 2000).

Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanza niveles que rebasan los límites máximos permitidos, causan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal en las plantas y disturbios funcionales en otros componentes del ambiente, así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo; este tipo de contaminación se conoce como “polución del suelo” (Martin, 2000).

Plomo (Pb)

El plomo es un elemento relativamente abundante; sus fuentes naturales son la erosión del suelo, el desgaste de los depósitos de los minerales de plomo y las emanaciones volcánicas. Su proporción en la corteza terrestre es aproximadamente de 15 mg kg^{-1} y la cantidad total se estima en 3.8×10^{14} toneladas (Albert, 1985).

Este metal se encuentra en el suelo principalmente en forma de Pb^{+2} también es conocido su estado de oxidación⁺⁴. Algunos de los compuestos insolubles son $\text{Pb}(\text{OH})_2$, PbCO_3 , PbS , PbSO_4 . La velocidad de oxidación depende de factores como la humedad, la temperatura, el pH, el potencial redóx, la cantidad de materia orgánica o la rotulación de suelos (Guitart y Vernon, 2005).

Hettiarchchi y Pierzynski (2002), reportan que este elemento es un contaminante ambiental altamente tóxico, su presencia en el ambiente se debe principalmente a las actividades antropogénicas como la industria, la minería y la fundición. En los suelos contaminados con Pb se suele encontrar también Cd y Zn.

En el suelo permanece inmóvil durante largo tiempo, su disponibilidad en el suelo depende de la composición de éste, de su acidez, de las especies de Pb presentes en él y de otros factores. El Pb en el suelo se puede encontrar en forma de PbCl_2 (Alarcón y Ronald, 2013).

El elemento puede contaminar los alimentos (Mushak *et al.* 1989), el metal que se encuentra en la atmósfera puede caer en la tierra, es absorbido a través de las raíces de los vegetales y contamina a los mismos.

Según Mahaffey *et al.* (1982), comentan que el plomo se absorbe por ingestión o por inhalación. La relación entre la exposición y los niveles de plomo sanguíneo constituye un proceso dinámico en el cual el plomo que se encuentra en la sangre representa el producto de exposiciones recientes, excreción y

equilibrio con otros tejidos. Los niños que tienen deficiencias de hierro, proteínas, calcio y/o zinc, absorben con mayor facilidad el plomo, cuya mayoría se almacena en los huesos.

Un problema actual en México por contaminación de metales pesados es en la ciudad de Torreón Coahuila el cual es provocado por el plomo, el cadmio y el arsénico, tres elementos altamente dañinos para los humanos; no obstante la causa se debe al funcionamiento de la cuarta fundidora más importante del mundo, propiedad de la compañía Peñoles, situada en ésta ciudad. En otros lugares puede presentarse la contaminación por plomo pero las fuentes emisoras pueden ser distintas (Valdés, 1999).

Contaminación del Suelo Por Metales Pesados

La contaminación del suelo por metales pesados está fundamentalmente relacionada con diferentes tipos de actividades humanas. Una vez en el suelo, éstos pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos (Pagnanelli *et al.*, 2004). Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y se reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelo, nivel de introducción y tiempo (Han *et al.*, 2003).

Las actividades geológicas naturales, como desgastes de cerros y volcanes, constituyen una fuente de aportaciones importante de metales pesados al suelo. También las actividades antropogénicas como la industria minera, que está catalogada como una de las actividades industriales más generadora de metales pesados. En el suelo, los metales pesados, pueden estar presentes como iones libres o disponibles, compuestos de sales metálicas solubles o bien, compuestos insolubles o parcialmente solubilizables como óxidos, carbonatos e hidróxidos (Pineda, 2004).

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

La Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de marzo de 2007. Menciona los límites permisibles de plomo para uso agrícola que son 400 mg kg^{-1} , mientras que para uso industrial las concentraciones límites permisibles es de 800 mg kg^{-1} (Cuadro 1).

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de diferentes elementos contaminantes en el suelo (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004)

Contaminante	Uso agrícola/ residencial/comercial (mg kg^{-1})	Uso industrial (mg kg^{-1})
Arsénico	22	260
Bario	5400	67000
Berilio	150	1900
Cadmio	37	450
Cromo hexavalente	280	510
Mercurio	23	310
Níquel	1600	20000
Plata	390	5100
Plomo	400	800
Selenio	390	5100
Talio	5.2	67
Vanadio	78	1000

Contaminación Por Plomo

González *et al.* (1997), señalan que el plomo es un metal pesado que hasta donde se sabe no cumple ninguna función biológica normal en el hombre, se distribuye ampliamente de forma natural en el ambiente y posee una gran cantidad de usos.

Los niveles de este metal en el suelo pueden tener una influencia importante sobre la salud humana y la animal. Sin embargo (Thornton *et al.*, 1990) mencionan que no todo el plomo del suelo presenta el mismo grado de movilidad o biodisponibilidad, y la distribución química del plomo en el suelo depende del pH del suelo, de la mineralogía, de la textura, del contenido en materia orgánica así como de la naturaleza de los compuestos de plomo.

El Pb ha sido considerado durante muchos años como uno de los principales contaminantes ambientales, como se puede apreciar en la Figura 1, debido al extenso uso que durante décadas ha tenido como componente de la gasolina, otras fuentes de exposición al plomo son la industria de cerámica, pigmentos en barnices, pinturas y esmaltes, la aleación con estaño en la soldadura y la industria de acumuladores y batería (Torres *et al.*, 2001).



Figura 1. Fuentes de contaminación de plomo para el ambiente. (Pallavi y Rama, 2005)

Los suelos no contaminados tienen concentraciones de Pb inferiores a 50 mg kg^{-1} , los que sí están contaminados en muchas áreas urbanas, exceden las 200 mg kg^{-1} , mientras que zonas próximas a las minas de plomo, a las industrias que emplean este metal y a las fundiciones, pueden tener niveles de contaminación del suelo superiores de $60\,000 \text{ mg kg}^{-1}$ (Nriagu, 1979).

Vergara (1999), consideró que las principales fuentes de contaminación por Pb son la gasolina, la actividad minera, la actividad industrial, las fundidoras, las baterías rotas de vehículos, las soldaduras y pinturas utilizadas en vehículos; el acero, además de contener Pb, también contiene Zn.

Las fuentes de contaminación por este elemento son múltiples e incluyen a las fundidoras, las fábricas de baterías, algunas pinturas, la loza de barro vidriado cocida a baja temperatura y las gasolinas con tetraetilo de plomo (que se dejaron de usar en México en 1997). En nueve sistemas de clasificación de

riesgo citados por el Fondo para la Defensa Ambiental o Environmental Defense, el plomo aparece como un material que es más peligroso que la mayoría de los productos químicos (Valdés, 1999), se le considera dentro del 10% de los materiales más peligrosos para la salud humana.

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 acumular metales pesados; proceso denominado “fitorremediación” que consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. Como ejemplo, Rodríguez *et al.*, (2006), estudiaron la extracción de Cd y Pb en plantas de tabaco encontrando potencial en dicha planta para este fin.

Sustancias Húmicas

Stevenson *et al.* (1994), definen que el término “humus” todavía no se emplea de manera específica y concreta. Mientras que para algunos autores este término significa lo mismo que materia orgánica del suelo, incluyendo sustancias húmicas (SH), definidas como materiales orgánicos identificables de elevado peso molecular, poseen polisacáridos y proteínas y sustancias simples como azúcares, aminoácidos y otras moléculas, pero excluyendo los tejidos de plantas y animales no descompuestos, los productos de descomposición parcial y la biomasa del suelo.

Los AF y AH tienen efecto en la disponibilidad de metales en el suelo y aceleran la eficiencia de la fitoextracción. Además, no tiene efectos negativos como los quelatos sintéticos, como EDTA ya que disminuyen seriamente el crecimiento de la planta, sin embargo, es un esfuerzo alto el obtener éstos en

cantidades suficientes para utilizarlos en la fitorremediación (Evangelou, *et al.*, 2004).

Las sustancia húmicas (SH) son capaces de alterar la absorción de nutrimentos por las raíces y modificar las actividades enzimáticas implicadas en el metabolismo del nitrógeno (Visser, 1985), Los ácidos húmicos (AH) y los ácidos fúlvicos (AF) son compuestos orgánicos no muy bien definidos químicamente, que constituyen la parte más elaborada de la descomposición de la MO; se derivan de diferentes materias primas originadas principalmente de yacimientos de carbón orgánico conocidos como lignitos, turbas y Leonarditas; forman humatos y fúlvatos con los cationes del suelo, con lo que evitan la retrogradación. Son capaces de fijar los nutrimentos que son aplicados como fertilizantes, disminuye las pérdidas por lixiviación e inmovilización.

Meléndez (2003), explica que los ácidos húmicos son moléculas más grandes y complejas que los AF; además, presentan contenidos más altos de nitrógeno, pero menor de grupos funcionales, los ácidos fúlvicos se distinguen de los ácidos húmicos por su coloración más clara, por el contenido relativamente bajo en carbono (menos del 55 por ciento) y por su buena solubilidad en agua, alcohol, álcalis y ácidos minerales.

La concentración de ligandos formadores de complejos solubles y dispersos especialmente ácidos fúlvicos controlan la movilidad de los metales en el suelo. Estos compuestos contienen una gran proporción de núcleos aromáticos con -OH y -COOH y otros grupos ricos en oxígeno unidos a ellos (Petrovic *et al.*, 1999).

EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético o EDTA, es una sustancia utilizada como agente quelante que puede crear complejos con un metal que tenga una

estructura de coordinación octaédrica. Coordina a metales pesados de forma reversible por cuatro posiciones acetato y dos amino, lo que lo convierte en un ligando hexadentado, y el más importante de los ligandos quelatos.

Uno de los agentes quelantes más usados para mejorar la fitorremediación de Pb es el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). El EDTA actúa acomplejando iones metálicos presentes en la solución del suelo, formando complejos solubles (Volke *et al.*, 2005), otros ácidos usados como agentes quelantes son el cítrico, málico y acético.

Salt *et al.* (1998), citan que en la fitoextracción, el EDTA se considera como el agente quelante por excelencia, sin embargo, su principal desventaja al ser aplicado a suelos contaminados es la capacidad para formar complejos muy estables y por lo tanto persistentes con los metales pesados, pudiendo ser un factor potencial de la movilidad de los metales (lixiviación) llegando así a contaminar aguas subterráneas.

Agentes quelantes como el EDTA no son fácilmente biodegradables, y pueden permanecer adsorbidos a las partículas del suelo durante períodos muy elevados tras el proceso de fitoextracción (Wasay *et al.*, 1998; Lombi *et al.*, 2001). En adición la liberación masiva de compuestos metálicos hacia la disolución del suelo implica la posibilidad de que parte de los metales tóxicos sean lixiviados hacia las partes inferiores del perfil del suelo, llegando posiblemente a las aguas subterráneas y provocando un elevado riesgo ambiental (Cunningham *et al.*, 1997; Bundt *et al.*, 2000).

Fitorremediación

La fitorremediación implica la acción de varios procesos que utilizan plantas y los microorganismos asociados a su rizosfera para remediar ambientes contaminados principalmente suelo y agua mediante la remoción,

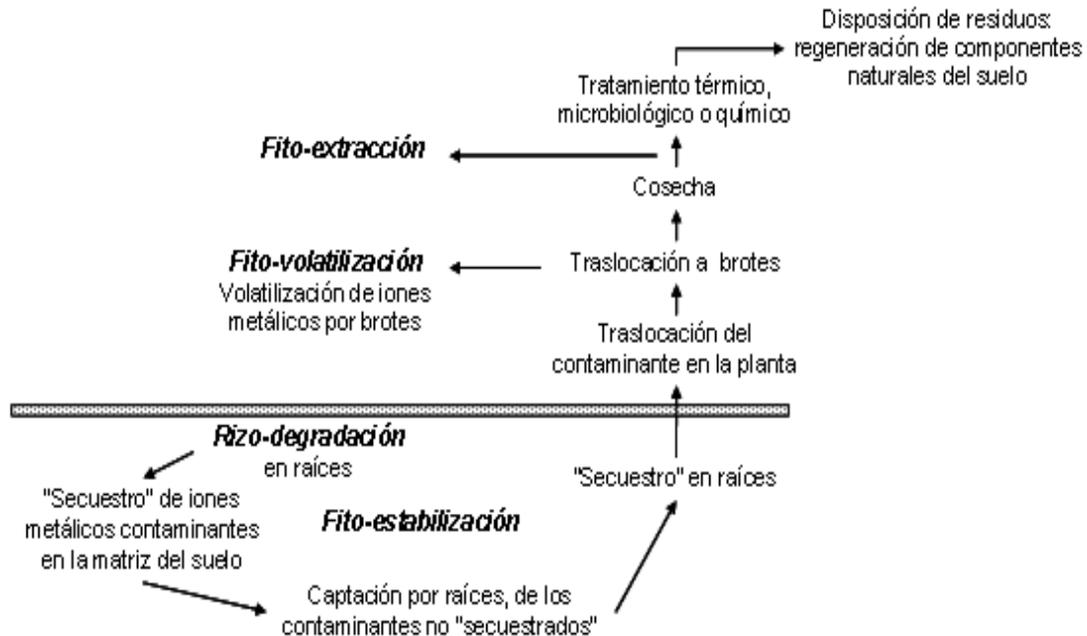
transformación, degradación o estabilización de contaminantes orgánicos e inorgánicos (Meagher, 2000; Mench *et al.*, 2009).

Alkorta *et al.* (2004), mencionan que esta tecnología supone el uso de las plantas para eliminar o reducir la toxicidad de los contaminantes del medio ambiente, las tecnologías principales para la fitorremediación de metales son: (i) la fitoextracción el uso de plantas para extraer los metales del suelo, trasportarlos y acumularlos en los órganos de la parte aérea, (ii) fitoestabilización el uso de plantas para minimizar la movilidad de los metales mediante su acumulación en la raíz o su precipitación en la rizosfera.

Este proceso ha ganado especial atención ya que es sustentable al ser un método efectivo de bajo costo y que representa una alternativa a los métodos químicos y físicos convencionales para la remediación de sitios contaminados con metales pesados (Salt *et al.*, 1995).

Existen varias técnicas aplicables a suelos contaminados con metales pesados: fitoextracción, fitoestabilización, fitodegradación, fitovolatilización y fitorrestauración. La fitoextracción o fitoacumulación, consiste en la absorción y translocación de los metales desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas. Estas posteriormente se cortan y se incineran o son acumuladas para reciclar los metales. La fitoestabilización se basa en el uso de plantas tolerantes a metales para inmovilizarlos a través de su absorción y acumulación en las raíces o precipitación en la rizosfera, disminuyendo su movilidad y biodisponibilidad para otras plantas o microorganismos en suelos donde la gran cantidad de contaminantes imposibilita la fitoextracción. La fitodegradación y rizodegradación se refieren a la degradación de contaminantes orgánicos a través de las enzimas de las plantas, sus productos o por la acción de microorganismos rizosféricos. La fitorrestauración está referida a la reforestación de áreas contaminadas con especies resistentes de rápido crecimiento, que previenen la migración de partículas contaminantes y la erosión de los suelos (Robinson *et al.*, 2006; Jing *et al.*, 2007).

Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelo, lodos y sedimentos, además que puede aplicarse tanto in situ como ex situ; este proceso incluye a su vez varios mecanismos, tales como la fitoextracción, la fitoestabilización, la rizofiltración y la fitovolatilización (Raskin *et al.*, 1997; Van Deuren *et al.*, 1997). Estos mecanismos se describen brevemente en la Figura 2.



Fuente: Singh *et al.* 2003.

Figura 2. Procesos involucrados en la fitorremediación del suelo

Sin embargo, existen especies vegetales endémicas de suelos metalíferos que pueden tolerar grandes e inusuales cantidades de metales u otros componentes tóxicos (Bañuelos *et al.*, 1997; Blaylock y Huang 2000., Raskin *et al.*; 1997, Dahmani *et al.*, 2000). Se ha demostrado que en este tipo de plantas tolerantes a la presencia de metales pesados como el Pb, las raíces tienen una habilidad para captar cantidades significativas de Pb mientras que simultáneamente se restringe su desplazamiento hacia las partes aéreas (Martin, 2000).

Cuando el plomo se encuentra presente en el suelo puede entrar en la raíz a través de la difusión pasiva. Estudios de absorción de Pb en plantas han demostrado que la mayor parte de éste se queda en las raíces (Kumar *et al.*, 1995). En este sentido la distribución de metales pesados en las células y tejidos de las plantas varía dependiendo en la concentración del metal en el medio, de la duración de la exposición y de las propiedades físicas y químicas del ión, lo que determina la factibilidad de que éste pase a través de las barreras fisiológicas (Sharma y Dubey, 2005).

Los pastos son el género más adecuado para la fitorremediación de formas orgánicas e inorgánicas de metales, por su hábitat de crecimiento y adaptabilidad a una variedad de condiciones edáficas y climáticas (Singh *et al.*, 2003).

La aplicación de este proceso tiene limitaciones: la profundidad de penetración de las raíces; la fitotoxicidad en áreas fuertemente contaminadas; los tiempos de proceso pueden ser muy prolongados, con respecto a las demás técnicas de remediación y la biodisponibilidad de los compuestos que siempre limita la captación. Para superar estas limitaciones es indispensable comprender (i) los mecanismos, (ii) las fases que participan en la fitorremediación y (iii) las interacciones planta microorganismo (Cunningham *et al.*, 1997).

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 investigados, en la mayoría de los casos, no se trata de especies raras, sino de cultivos comunes que se han ensayados 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 *et al.* 1999).

Fitoextracción

Hinchman y Negri (1997), enfatizan que la fitoextracción consiste en la remoción de los contaminantes por medio de un cultivo que en la parte aérea sean capaces de acumular metales y después de ser cortadas las plantas pueden ser depositadas en lugares adecuada o ser sometidas a procesos de reducción de biomasa como compostación, digestión e incineración con subsecuentes recuperación de metales importantes.

Este proceso consiste en la absorción de contaminantes por las raíces; es la capacidad de algunas plantas para acumular contaminantes en sus raíces, tallos o follaje, este mecanismo ha sido ampliamente estudiado en plantas que acumulan metales Jian *et al.* (1997). Para Ernest, (2000), la fitoextracción también llamada fitoacumulación, se refiere a la absorción de los contaminantes por la raíz de la planta y su translocación a las porciones superiores de la misma. Las plantas se distribuyen en el sitio contaminado y transcurrido un tiempo, se cosecha para ser incineradas; si los metales tienen valor comercial pueden ser extraídos de las cenizas. El procedimiento se realiza tantas veces como sea necesario para descender hasta niveles permisibles de contaminantes como Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn; es la tecnología más atractiva para limpiar suelos contaminados con metales pesados (Lasat, 2002), para esto se busca emplear plantas con características específicas, como son las hiperacumuladoras de metales pesados que son muy tolerantes a estos y también tienen gran capacidad para acumularlos. La desventaja encontrada en plantas con dichas características es que no tienen una buena generación de biomasa en un tiempo corto.

A esta técnica también conocida como fitoacumulación, es la captación de iones metálicos por las raíces de la planta y su acumulación en tallos y hojas. Hay plantas que absorben selectivamente grandes cantidades de metales acumulando en los tejidos concentraciones mucho más altas que las presentes en el suelo o en el agua. Este proceso se ha utilizado para eliminar

hidrocarburos de agua y suelo con cultivos de alfalfa, álamos, enebro (Vázquez, 2003).

Dushenkov *et al.* (1997), consideran a este proceso como un subgrupo de la fitorremediación, que se basa en el uso de plantas de cultivo de alta biomasa en combinación con un sistema de enmiendas del suelo para extraer los metales pesados, y que podría proporcionar una manera económica de restaurar el valor de las tierras contaminadas.

Es la tecnología más atractiva para limpiar suelos contaminados con metales pesados (Kramer, 2005). Mediante esta tecnología los metales son adquiridos por las raíces de las plantas y transportados a las partes aéreas (hojas y tallos), posteriormente hojas y tallos conteniendo los metales pesados pueden ser cosechada, logrando así la remoción del contaminante e incluso su posterior recuperación (fitominería). Una de las principales limitaciones que se encuentra en la fitoextracción es la biodisponibilidad de metales pesados para ser absorbidos por la planta. Una de las formas más comunes para mejorar esta deficiencia es la adición de quelantes sintéticos para aumentar la biodisponibilidad de los metales (Salt *et al.*, 1995).

Según Adriano (2001); Barceló y Poschenrieder (2003), opinan que todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, de las características y contenido en metales del suelo. Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno.

Debe considerarse como una tecnología de largo plazo, que puede requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables. El tiempo requerido depende de la concentración y tipo de contaminante(s), de la duración del periodo de crecimiento y de la eficiencia de remoción de la especie utilizada y puede tomar entre unos 20 años (Prasad y Freitas, 2003).

Una de las principales limitaciones que se encuentra es la biodisponibilidad de los metales pesados para ser obtenidos por la planta. Una de las formas más comunes de mejorar esta deficiencia es la adición de quelantes sintéticos para aumentar la biodisponibilidad de los metales. En la Figura 3, se puede observar el proceso de fitoextracción, donde el metal existente en el suelo, es captado por las raíces, se trasloca a las partes aéreas de la planta para su acumulación, donde luego es cosechado, para su eliminación o recuperación.

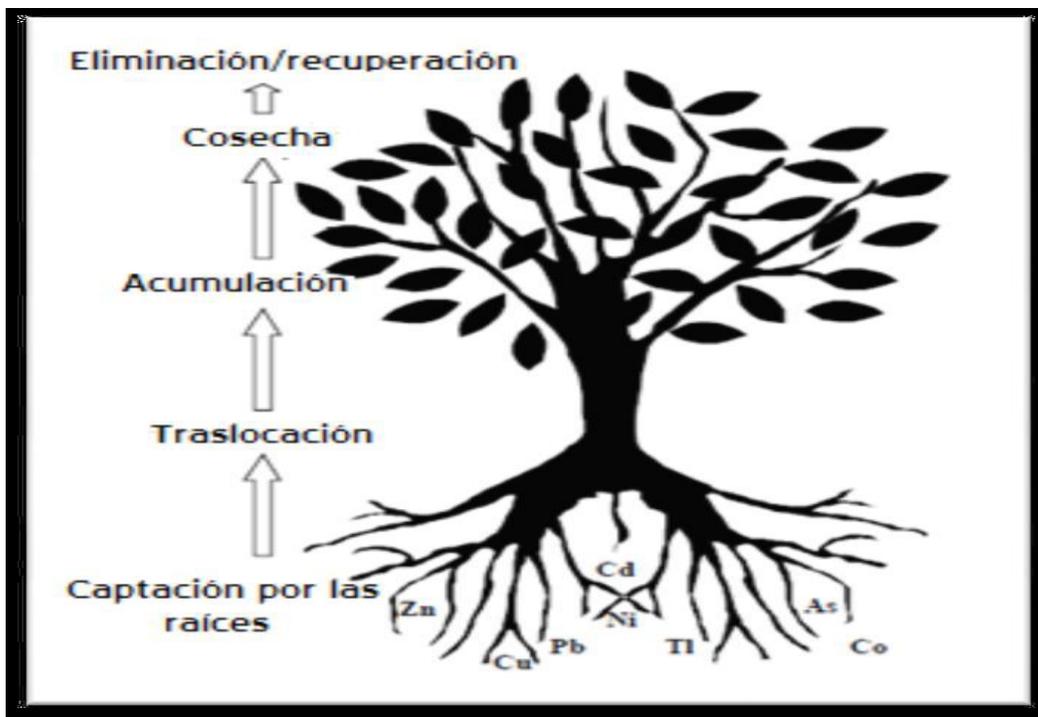


Figura 3. Fitoextracción de metales. (Alkorta *et al.*, 2004).

Fitoextracción de Plomo

Blaylock *et al.* (1997), demostraron la alta capacidad del quelante sintético EDTA, para aumentar la fitoextracción de Pb usando la planta Brassica

juncea, esto debido a que el EDTA presenta una afinidad por el Pb y contribuye a ponerlo en forma biodisponible para la planta.

Buscando cumplir con esto último, se estudió a *Sesbania drummondii*, para demostrar su capacidad como hiperacumuladora de plomo, Sahi *et al.*, (2002) y se encontró que las concentraciones de más de 4% de plomo en las hojas, fueron obtenidas al ser cultivada en una solución de Hoagland modificada, que contenía 1 gramo de Pb (NO₃)₂ l⁻¹, además de que la acumulación de plomo en el tejido depende de la concentración de este en la solución nutritiva.

En las *Asteraceae* se ha reportado por ejemplo tolerancia al plomo en *Sonchus oleraceus* y se le ha propuesto como especie fitoremediadora de ambientes contaminados con este metal (Xiong, 1997).

Huang y Cunningham (1997), compararon la fitoextracción de plomo de maíz (*Zea mays*) y ambrosia (*Ambrosia artemisiifolia*) contra *Thlaspi aestivum*, *Thlaspi rotundifolium*, *Thlaspi caerulescens* y *Brassica juncea*, usando una solución nutritiva y suelo contaminado con plomo, y encontraron que las especies de plantas difieren significativamente en la absorción y traslocación de plomo. El maíz fue quien acumulo la mayor cantidad de plomo por lo que se sugiere que en combinación con enmiendas podría ser utilizado para la limpieza de suelos contaminados con este metal.

Espinaca (*Spinacia oleracea* L.)

La espinaca (*Spinacia oleracea* L.), es una planta anual, de la familia de las *amarantáceas*, subfamilia quenopodioideas, cultivada como verdura por sus hojas comestibles, grandes y de color verde muy oscuro. Su cultivo se realiza durante todo el año y se puede consumir fresca, cocida o frita. Es rica en vitaminas A y E.

La espinaca al igual que la acelga pertenece a la familia de las Quenopodiáceas, siendo una planta anual; su uso hortícola tiene lugar al comienzo del ciclo vegetativo ya que después emite su tallo floral perdiendo valor como producto. El órgano de consumo de esta hortaliza lo constituyen sus hojas (Serrano, 1977).

Es una planta de raíz pivotante, levemente engrosada, poco ramificada y de arraigamiento superficial, pudiendo medir entre 30 y 180 cm de ancho y alcanzando hasta 1 m de profundidad. En lo que respecta al tallo, este es muy corto y rudimentario, llegando a medir entre 0,5 y 1,0 cm de diámetro (Krarup y Moreira, 1998; Valadez, 1993).

Gorini (1970), consideran que la espinaca se caracteriza por el desarrollo de una especie de roseta de hojas caulíferas, más o menos erectas alternas y pecioladas, de forma y consistencia muy variable, en función de las distintas características de la variedad cultivable y de la posición que adoptan en la planta. De hecho la forma puede ser triángulo-ovalada, triangular acuminada, entera o sinuoso – dentada, redondeada-plumiforme. El color es verde oscuro, lucente u opaco pálido; la consistencia es tierna o más o menos carnosa; las hojas son a menudo onduladas o globosas de dimensiones más o menos grandes.

Respecto a los cultivares más demandados en Chile, y a la vez los más difundidos en el mundo, se señala que estos corresponden a los cultivares de hojas lisas, de invierno y de verano. Dentro de los primeros son conocidos de variedad Viroflay (Monstruosa de Viroflay y Gigante de Viroflay) (Giacconi y Escaff, 1998).

Requerimientos del Cultivo

Suelo

La espinaca se puede cultivar en una gran variedad de suelos, prefiriéndolos franco-arenosos, fértiles y bien drenados. Para las producciones invernales son más adecuados los suelos que tengan un buen drenaje, por lo cual suelos demasiado arcillosos no son recomendables para su cultivo (León, 1997; Rubatzky y Yamaguchi, 1997; Giaconi y Escaff, 1998).

Giaconi y Escaff (1998), explican que la espinaca es sensible a la acidez, disminuyendo el porcentaje de germinación cuando se le cultiva en suelos muy ácidos, observándose durante el cultivo una coloración amarillo café en el borde de las hojas. Esta sintomatología, de acuerdo a lo señalado por (Salisbury y Ross 1994), es coincidente a una deficiencia de nitrógeno, a lo cual se añade la presencia de tallos cortos y delgados si la deficiencia se presenta en estado avanzado del cultivo.

Clima

La espinaca es una planta preferentemente de clima templado y el mejor producto se obtiene durante las estaciones frescas. Según (Maroto (1989) es una especie cuyo cero vegetativo es de 5°C, no soporta temperaturas demasiado altas y en términos generales resiste temperaturas bajas extremas. Además, se señala que los óptimos térmicos para el desarrollo de esta especie fluctúan entre los 15 y 18°C (Maroto, 1989; LeStrange *et al.*, 2001).

Humedad

La espinaca es una especie cuyas hojas presentan un alto contenido de agua y además posee un sistema de arraigamiento superficial, por lo cual, es muy sensible a déficit hídricos. Cuando es cultivada en épocas estivales se debe poner especial cuidado en la condición de humedad del suelo. Los riegos deben ser cortos y de alta frecuencia (Gorini, 1970; Giaconi y escaff 1998).

Mantenimiento del Cultivo

Siembra

Giaconi y Escaff (1998), reportan que la siembra debe realizarse en terrenos ligeramente húmedos y de preferencia con sembradoras de precisión, siendo la dosis de semilla aproximadamente de entre 8 a 10 kg/ha⁻¹, con una distancia entre hileras que varía de acuerdo al cultivar, maquinaria utilizada y modalidad de cosecha.

La distancia de siembra entre hileras según (Ellena 1993 y Marin 1999), puede variar entre 20 y 40 cm, y sobre la hilera a chorro continuo. En ensayos realizados en la IX región, los mejores resultados se han obtenido con distancias de 30 cm entre hileras, con una dosis de semilla de entre 12 a 15 kg por hectárea.

Cosecha

Para Valadez (1993), el indicador de cosecha más común es el tiempo cronológico, el cual es dependiente de cada cultivar. En general, para los cultivares de verano, el momento adecuado de cosecha se presenta en el rango comprendido entre los 40 y 60 días después de la siembra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Área del Experimento

El presente trabajo, se realizó en un invernadero del Departamento de Ciencias del Suelo, localizado en el *Campus* principal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 21' 12" de Latitud Norte; 101° 02' 03" de Longitud Oeste y una altitud de 1777 m.s.n.m.

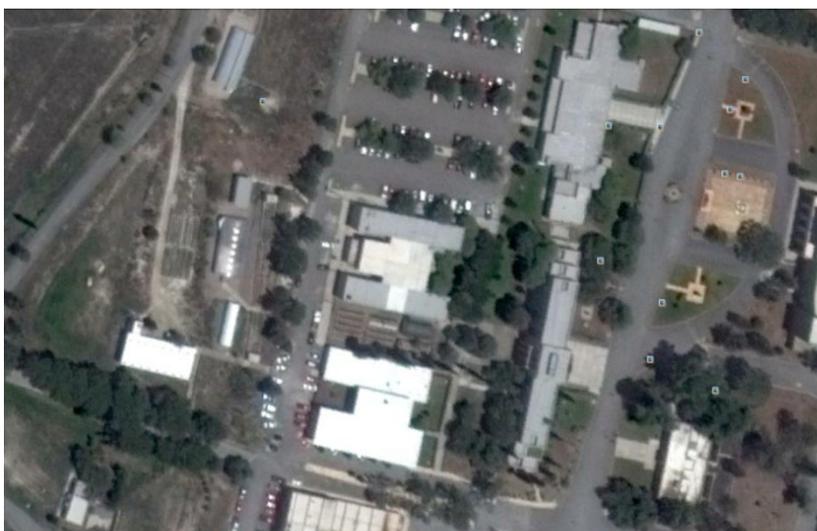


Figura 4: Localización del área de experimento.

Metodología

Para este experimento, se colectaron dos suelos: uno de Zamora, Michoacán y otro del área experimental de la UAAAN, denominada “El Bajío”; el primero es un Andosol, el cual se le estima una cantidad considerable de hierro, por lo tanto se realizara evaluaciones con la finalidad de comprobar si existe una respuesta de los quelatos en la biodisponibilidad de este elemento, el segundo es un Calcisol, cuyas características se muestran en los Cuadros 2 y 3. Una vez caracterizados ambos suelos, cinco kilogramos de cada suelo, se colocaron en macetas de plástico, posteriormente se contaminaron con 1000 mg kg^{-1} y según los límites máximos permisibles establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, para la regulación de sitios contaminados, estos suelos no pueden tener uso agrícola ni industrial.

Se tomaron 16 macetas para cada tipo de suelo, lo que dio un total de 32 unidades experimentales. En cada maceta se sembraron tres semillas de espinaca de variedad monstruosa viroflay.

Los tratamientos utilizados fueron: el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un ácido fúlvico, un ácido húmico y el agua como testigo absoluto, para estos tratamientos se utilizo la misma cantidad de 60 ml. Las variables evaluadas, fueron los contenidos de plomo y hierro, en el tejido vegetal de follaje por via humeda (Mars 6 User Guiderlines, 2012) y se realizaron dos cortes; para la elaboración del extracto, se empleo un dígestor a base de microondas (MARS 6 ONE TOUCH) y para determinar su cantidad de los elementos químicos, un espectrofotometro de absorción atómica (SpectrAA VARIAN 5).

El experimento se distribuyo de acuerdo al Diseño Experimental Completamente al Azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. A los datos resultantes, se les realizo el análisis de varianza (ANVA), la comparación de medias por la Diferencia Mínima Significativa (DMS, 0.05), mediante el Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Génerado por la

Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo Leon (Olivares, 1994).

Cuadro 2. Características determinadas en los suelos y métodos

Determinación	Método
pH	Potenciómetro
Conductividad eléctrica	Extracto de saturación
Carbonatos	Ácido base
Materia orgánica	Walkley-Black
Textura	Bouyoucos

Cuadro 3. Características y resultados de los suelos

Características	Resultados	
	Andosol	Calcisol
pH	6.8	7.8
Textura	28% arcilla, 22 % limo y 50 % arena	10% arcilla, 48% limo y 42 % arena
Conductividad eléctrica	1.588 dS/m	4.96 dS/m
Carbonatos totales	0	67.2 %
Materia orgánica	5.0 %	5.20%

Interpretación de Resultados

El Andosol, se encuentra con un pH ligeramente ácido, con textura de migajón arcilla arenoso, no salino, no contiene carbonatos totales y muy alto en materia orgánica.

El Calcisol, se encuentra con un pH medianamente alcalino, con textura migajón, moderadamente salino, muy alto en carbonatos totales y alto en materia orgánica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan los resultados obtenidos de la fitoextracción del plomo y el hierro en dos suelos contaminados, utilizando espinaca de la variedad monstruosa viroflay y tres agentes quelatantes.

Primera Evaluación

En el Cuadro 4, se observa que los tratamientos, realizaron efecto altamente significativo; así, en la Figura 5, se observa claramente que con la adición del EDTA, se extrajo la mayor cantidad de plomo en el andosol, con 436 mg kg^{-1} ; mientras que con los ácidos fúlvicos y húmicos se extrajeron 96 y 92 mg kg^{-1} respectivamente y con el testigo 60 mg kg^{-1} . En parte estos resultados concuerdan con Rodríguez (2006), en el sentido de que el EDTA tiene un mayor poder quelante que las sustancias húmicas, ya que el intervalo óptimo de pH para que forme complejos metálicos se sitúa entre 6 y 7.5. Su rentabilidad aumenta cuando se trabaja con estos rangos de pH, ya que en esas condiciones se disocian uno o más de los grupos de H^+ de los cuatro grupos carboxílicos, dando lugar a diversas especies iónicas del EDTA.

Cuadro 4. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un andosol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	299827.343750	99942.445313	9.7783	0.003**
Error	10	102208.375000	102200.037891		
Total	13	402035.718750			

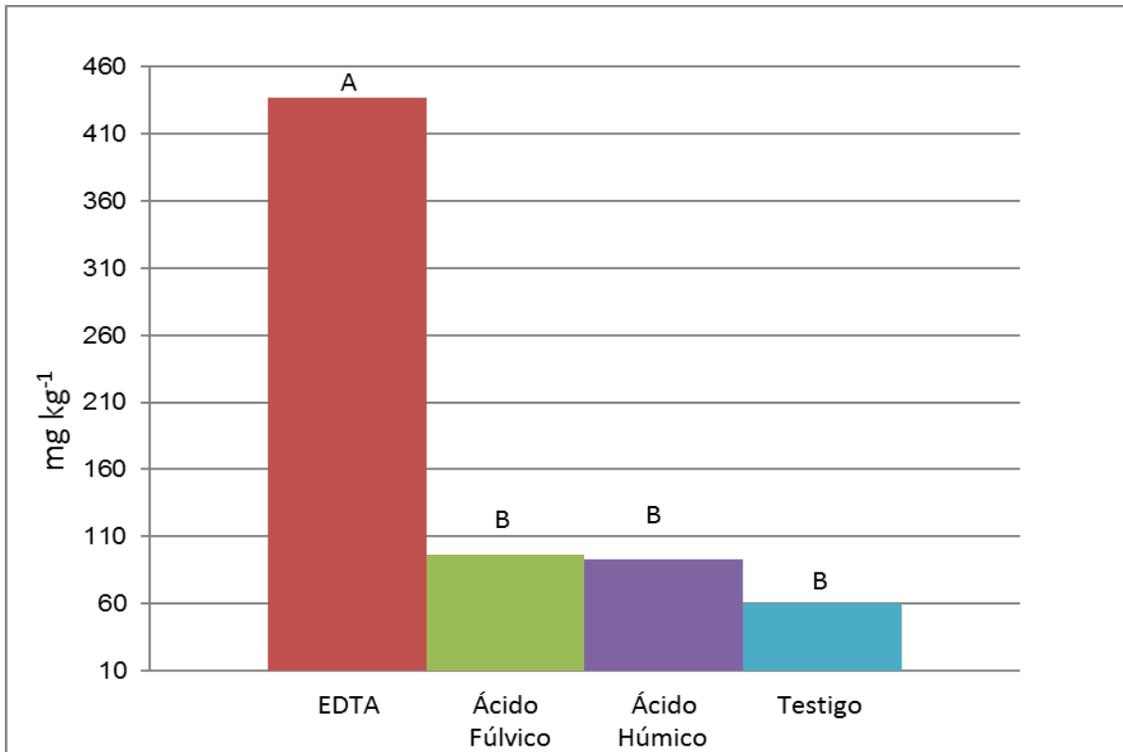


Figura 5. Fitoextracción de plomo en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes

En el Cuadro 5, se muestra que los tratamientos tuvieron un efecto altamente significativo en el calcisol, en la Figura 6, se puede observar la diferencia de la media de los tratamientos con las letras A y B, entre los valores que van de 57 hasta 1166 mg kg⁻¹, teniendo mayor efecto el EDTA con 1166 mg kg⁻¹, encontrando al testigo y ácido fúlvico con los mismos valores de 77 mg kg⁻¹ respectivamente y el ácido húmico con menor cantidad de 57 mg kg⁻¹.

Cuadro 5. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un calcisol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	2896023.250000	965341.062500	119.8278	0.000**
Error	11	88616.750000	8056.068359		
Total	14	2984640.000000			

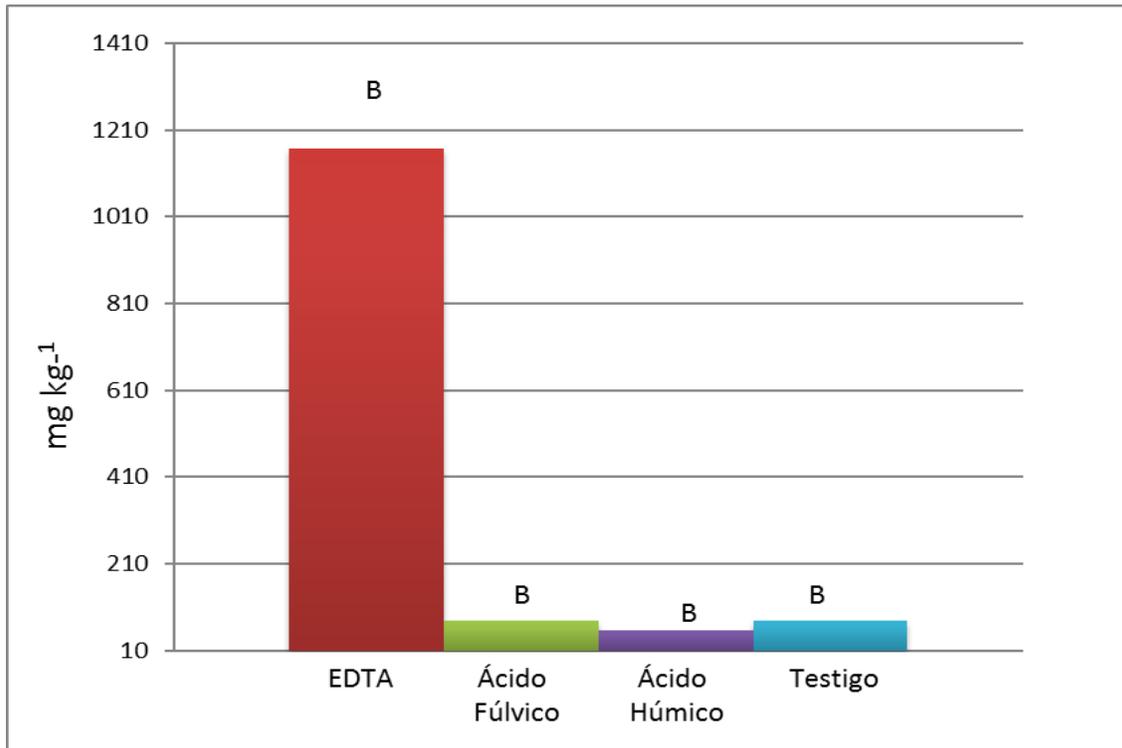


Figura 6. Fitoextracción de plomo en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes

En la primera evaluación de hierro absorbido por la planta en el andosol (Cuadro 6), muestran tener un efecto no significativo, sin embargo en la Figura 7, se observa claramente la diferencia entre ellos, encontrando una alta cantidad de este elemento con el tratamiento ácido fúlvico de 257 mg kg^{-1} y el testigo con menor cantidad de 103 mg kg^{-1} .

Cuadro 6. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un andosol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	45958.312500	15319.437500	1.8582	0.200 NS
Error	10	82441.687500	8244.168945		
Total	13	128400.000000			

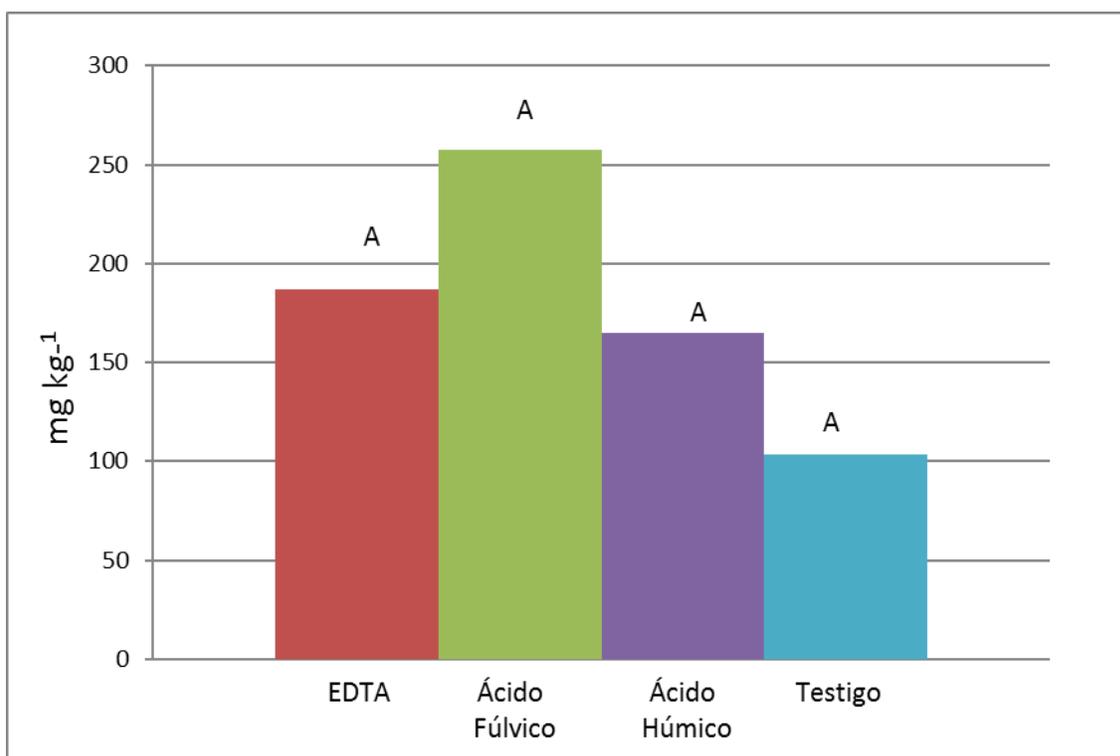


Figura 7. Fitoextracción de hierro en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes

En el Cuadro 7, indican estadísticamente que los tratamientos en la fitoextracción de hierro en un calcisol no obtuvieron efecto significativo, no obstante en la Figura 8, se aprecia los mayores valores de 125 y 120 mg kg⁻¹ que corresponden al ácido fúlvico y EDTA respectivamente y obteniendo menor efecto el ácido húmico con 92 mg kg⁻¹. Según Borggaard (1981), análisis de suelos de Dinamarca y Tanzania utilizando dos extractantes; el oxalato de amonio y EDTA, donde comprobó que los dos extraen la misma cantidad de hierro a pH de 7.5.

Cuadro 7. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un calcisol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	2618.750000	872.916687	1.1055	0.386 NS
Error	12	9475.000000	789.583313		
Total	15	12093.750000			

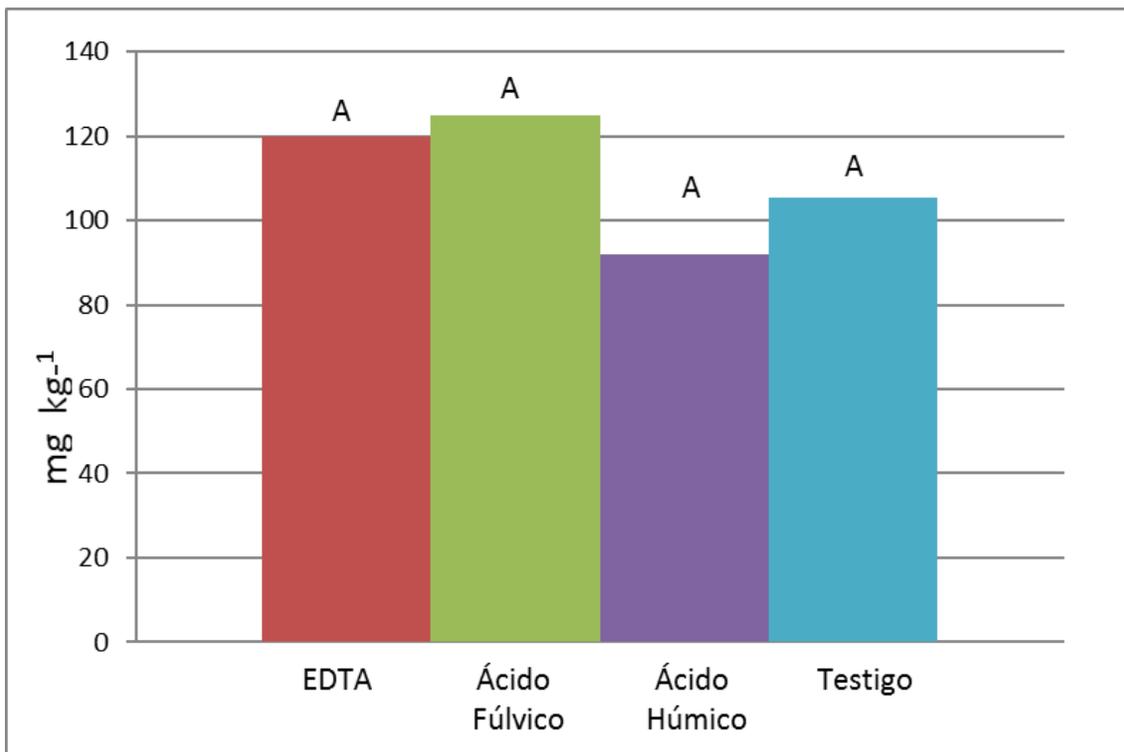


Figura 8. Fitoextracción de hierro en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes

Segunda Evaluación

En el Cuadro 8, se presenta el análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un andosol, donde indica que los tratamientos no presentaron un efecto significativo, sin embargo en la Figura 9, Se aprecia claramente la diferencia entre ellos, obteniendo los mayores valores de 206 y 195 mg kg⁻¹ que corresponden al EDTA y testigo respectivamente, y el ácido fúlvico con una cantidad de 67 mg kg⁻¹. Blaylock *et al.* (1997), demostraron la alta capacidad del quelante sintético EDTA, para aumentar la fitoextracción de Pb usando la planta *Brassica juncea*, esto debido a que el EDTA presenta una afinidad por el Pb y contribuye a ponerlo en forma biodisponible para la planta.

Cuadro 8. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un andosol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	52056.687500	17352.228516	2.2965	0.134 NS
Error	11	83116.656250	7556.059570		
Total	14	135173.343750			

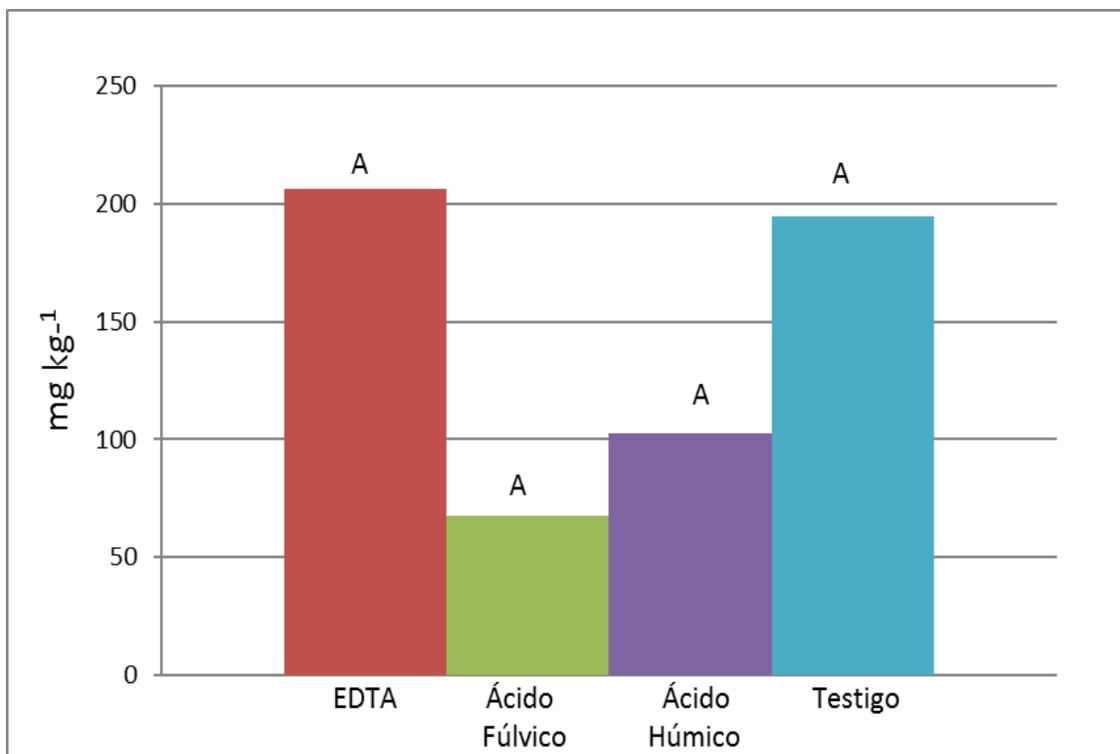


Figura 9. Fitoextracción de plomo en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes

En el Cuadro 9, se presenta el análisis de varianza (ANVA) de la fitoextracción de plomo en un calcisol, donde indican estadísticamente que se tuvo un resultado altamente significativo, en la Figura 10, se muestra claramente la comparación de medias con las letras A y B, encontrando al EDTA con una cantidad de 145 mg kg^{-1} , teniendo a los ácidos fúlvicos y húmicos con valores de 62 y 60 mg kg^{-1} respectivamente y con menor efecto al testigo de 52 mg kg^{-1} . De acuerdo con el estudio realizado por Ulery *et al.* (2008), los agentes acomplejantes como el EDTA tienen la capacidad de solubilizar una mayor cantidad de Pb.

Cuadro 9. Análisis de varianza de la fitoextracción de plomo en un calcisol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	22750.000000	7583.333496	28.0000	0.000**
Error	12	3250.000000	270.833344		
Total	15	26000.000000			

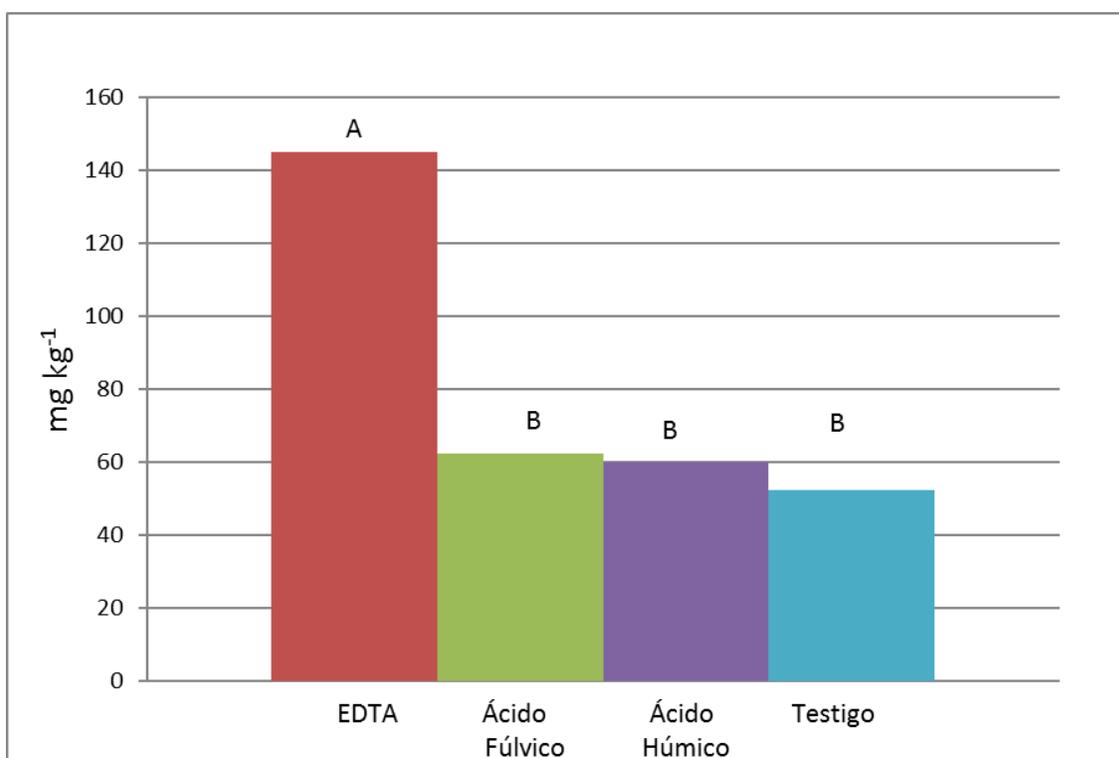


Figura 10. Fitoextracción de plomo en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes

En el Cuadro 10, se puede apreciar la fitoextracción de hierro en un andosol, donde se indica estadísticamente, que no obtuvieron un efecto significativo entre los tratamientos, no obstante en la Figura 11, se muestra claramente que si existe diferencia entre tratamientos y aunque no sean significativas, podemos ver que el ácido húmico y el EDTA tienen las cantidades más altas con 245 y

222 mg kg⁻¹ respectivamente y teniendo con menor cantidad al testigo con 130 mg kg⁻¹.

Cuadro 10. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un andosol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	28185.000000	9395.000000	0.7890	0.527 NS
Error	11	130975.000000	11906.818359		
Total	14	159160.000000			

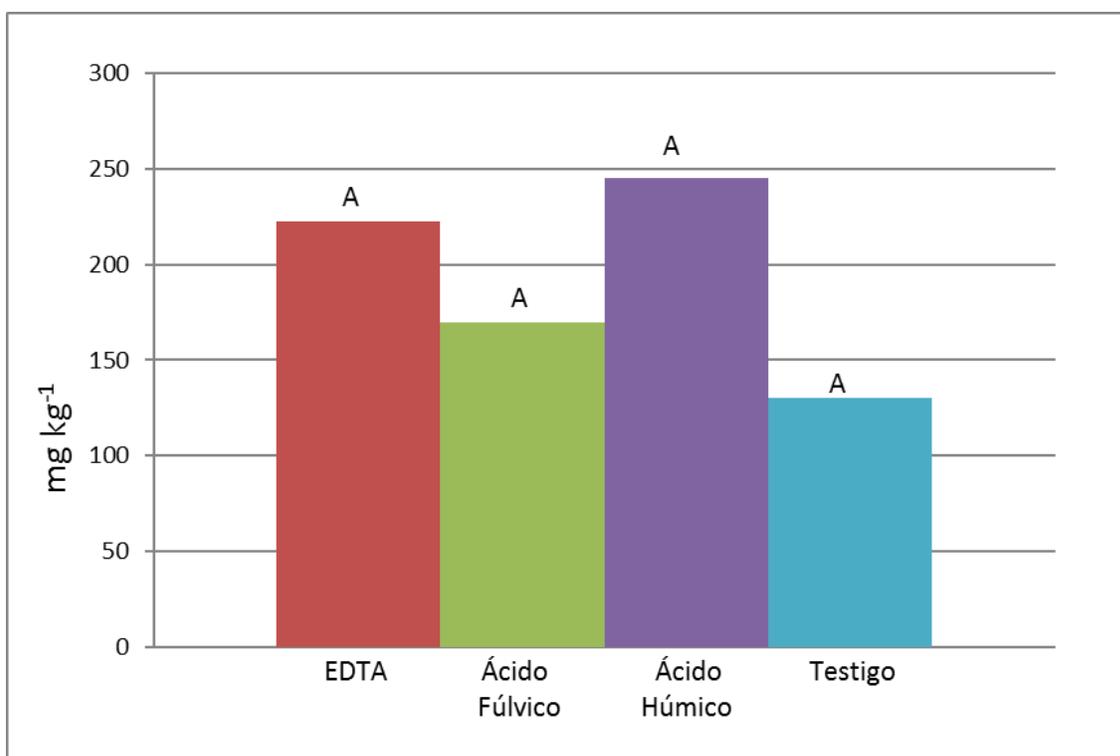


Figura 11. Fitoextracción de hierro en un andosol, con el uso de tres agentes quelatantes

En el Cuadro 11, en la evaluación de la fitoextracción de hierro en un calcisol, se aprecia estadísticamente que no tuvieron efecto significativo, sin embargo, en la Figura 12, se observa que el testigo tiene una cantidad muy alta de 347 mg kg⁻¹, encontrando al EDTA con 90 mg kg⁻¹ y seguido por los ácidos húmicos y fúlvicos

con casi la misma cantidad de 80 y 75 mg kg⁻¹. los AF y AH tienen efecto en la disponibilidad de metales en el suelo y aceleran la eficiencia de la fitoextracción. Además, no tiene efectos negativos como los quelatos sintéticos, como EDTA ya que disminuyen seriamente el crecimiento de la planta, sin embargo, es un esfuerzo alto el obtener éstos en cantidades suficientes para utilizarlos en la fitoremediación (Evangelou, *et al.* 2004).

Cuadro 11. Análisis de varianza de la fitoextracción de hierro en un calcisol

FV	GL	SC	CM	F	F>F
Tratamientos	3	1325.000000	441.6666656	1.1910	0.355 NS
Error	12	4450.000000	370.833344		
Total	15	5775.000000			

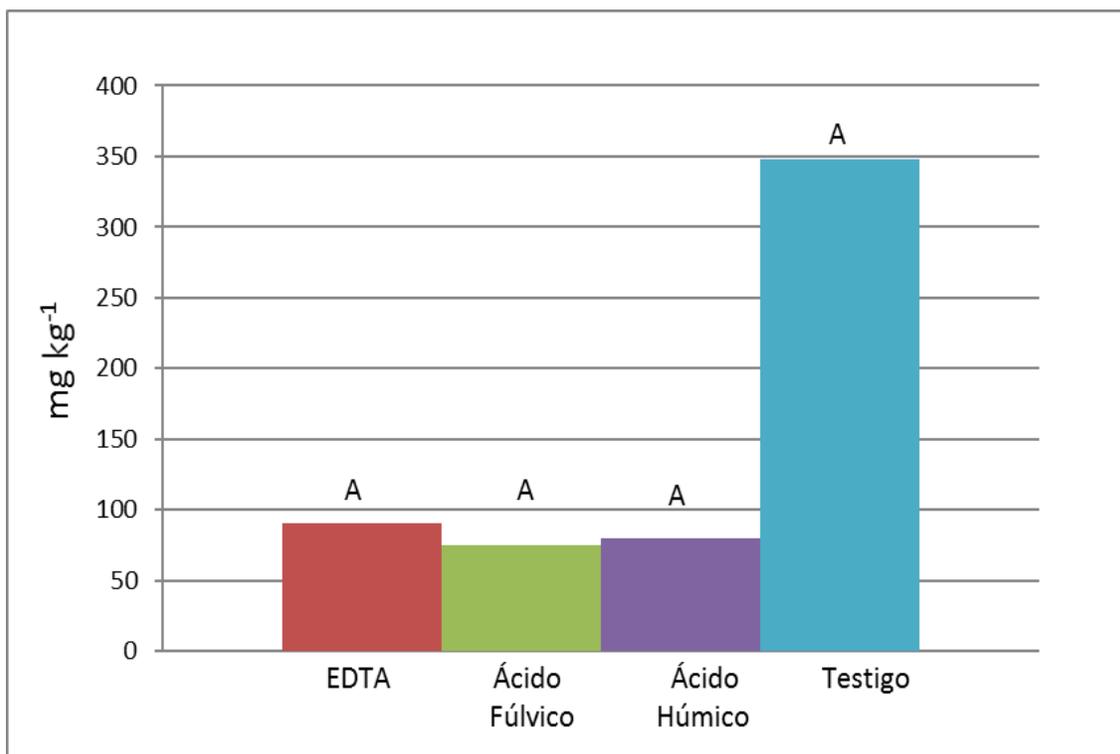


Figura 12. Fitoextracción de hierro en un calcisol, con el uso de tres agentes quelatantes

CONCLUSIÓN

Con el agente quelatante EDTA, se extrajo la mayor cantidad de plomo en ambas evaluaciones, mientras que la extracción de hierro en la primera fue superior el ácido fúlvicos y en la segunda evaluación con los ácidos húmicos, lo que significa que el EDTA extrajo al plomo y los agentes orgánicos al hierro.

BIBLIOGRAFÍA

- Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentaste, E., Sarzanini, C. Barberis, R. 2002. Distribution and Mobility of Metals in Contaminated Sites. Chemometric Investigation of Pollutant Profiles. *Environmental Pollution*, 119: 177.
- Adriano, D. C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Segunda Edición. Springer-Verlag. Georgia, USA. 871 pp.
- Alarcón, A. Ronald, F. C. 2013. biorremediación de Suelos y Aguas: Contaminadas con Compuestos Orgánicos e Inorgánicos. México Trillas. ISBN 978-607-17-1617-0.
- Albert, L. A. 1985. Curso Básico de Toxicología Ambiental. Instituto Nacional de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos (INIREB).
- Alkorta, I; Hernández-Allica, J; Becerril, J. M; Amezaga, I; Albizu, I. Garbisu, C. 2004. Recent Findings on the Phytoremediation of Soils Contaminated With Environmentally Toxic Heavy Metals and Metalloids Such As Zinc, Cadmium, Lead, and Arsenic. *Review in Environmental Science and Bio/Technology*. 3: 71–90.
- Alloway, B. J. 1995. Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional. Londres. 370 pp.
- Bañuelos, G.S., H.A. Ajwa, B. Mackey, L. Wu, C. Cook, S. Akohoue. S. Zambrzuski, 1997. Selenium-Induced Growth Reduction in Brassica Landraces Considered for Phytoremediation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 36, pp. 282-287.

- Barceló, J. Poschenrieder, C. 2003. Phytoremediation: Principles and Perspectives. Contributions to Science 2 (3): 333-334. Institut d'Estuis Catalans, Barcelona.
- Bautista, Z. F. 1999. Introducción al Estudio de la Contaminación del Suelo por Metales Pesados. Ediciones de la Universidad de Yucatán.
- Bernal, M. P. 1997. Apuntes. Departamento de Conservacion de Suelos y Aguas y Manejo de Residuos Orgánicos de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigacion Cientifica (CSIC). Murcia, España.
- Blaylock, M. J., Huang, J. W. 2000. Phytoextraction of metals, In: I. Raskin and B.D. Ensley (Ed.) Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment, John Wiley and Sons, Inc, Toronto, Canada, p. 303.
- Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov S., Zakharova, O., Gussman C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., Raskin, I. 1997. Enhanced Accumulation of Pb in Indian Mustard by Soil-Applied Chelating Agents. Environ. Sci. Technol. 31, 860-865.
- Borggaard, O. K. 1981. Selective Extraction of Amorphous iron Oxides by EDTA From Soils from Denmark and Tanzania: J. Soil Sci. 32, 427-432.
- Bundt, M., Albrecht, A., Froidevaux, P., Blaser, P., Fluhler, H., 2000. "Impact of Preferential Flow on Radionuclide Distribution in Soil". Environmental Science & Thecnology, 34: 3895–3899.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J.M. 1997. Phytoremediation of Soil Metals. Current Opinion in Biotechnology, 8: 279-284.
- Cunningham, S. D., Shann, J. R., Crowley, D. E., Anderson, T. A., 1997. "Phytoremediation of Contaminated Water and Soil". Journal of Environmental Quality, 28: 760–766.

- Cunningham, S. D; Berti, W. R; Huang, J. W. 1995. Phytoremediation of Contaminated Soils. Trends Biotechnol. 13: 393-397.
- Dahmani, M, H., F. van, O. B. Gélie, M., Blabane., 2000. Strategies of Heavy Metal Uptake by Three Plants Species Growing Near a Metal Smelter, Environ. Pollut., 109, pp. 231-238.
- De Oliveira, F., Maria, V. P., Narasimha, F. 1999. Feasible Biotechnological and Bioremediation Strategies For Serpentine Soils and Mine spoil. Eletronic Journal of Biotechnology 20-34.
- Dushenkov, S., Kapulnik, Y., Blaylock, M., Sorochisky, B., Raskin, I., Ensley, B. 1997. Phytoremediation: a Navel Approach To an Old Problem. Studies in Environmental Science. 66: 563-572.
- Ellena, M. 1993. Producción Forzada de Hortalizas de Hoja. Curso Taller Hortalizas Bajo Plástico Para el Sur de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Carillanca. Serie Carillanca n° 36. 64-68.
- 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.
- García, I; Dorronsoro, C. 2001. Contaminación por Metales Pesados. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada, España.
- Giaconi, V., Escaff, M. 1998. Cultivo de Hortalizas. 15ª ed. Santiago. Editorial Universitaria. 336 p.

- González, M; Banderas, J. A; Raya, C; Baéz, A; Belmont, R. 1997. Cuantificación de Plomo, Cadmio y Cromo Mediante Sialoquímica. *Salud Publica de México*. 39 (3): 179-186.
- Gorini, F. 1970. *El Cultivo de la Espinaca*. Zaragoza. España. Acribia. pp. 5- 22.
- Guitart, R., Vernon, G. T. 2005. *Revista Española de Salud Pública* V.79 No.6 Madrid Nov.- ISSN 1135-5727.
- Han , F. X., Banin, A., Kingery, W. L., Triplett, G. B., Zhou, L. X., Zheng, S. J., Ding, W. W., 2003. New Approach to Studies of Heavy Metal Redistribution in Soil. *Advances in Environmental Research*, 8, pp. 113-120.
- Hettiarachchi, G. M., Pierzynski, G. M. 2002. In Situ Stabilization of Soil Lead Using Phosphorus and Manganese Oxide: Influence of Plant Growth. *Journal Environmental Quality*, 31:564-573.
- Hinchman, R., Negri, M. 1997. Providing the Baseline Science and Data for Real-Life Phytoremediation Applications: Partnering for Success in: Thbeault, CA; Sanage, LM. *Phytoremediation*, Seattle: IBC s.p.
- Huang, J. W., Cunningham, S. D. 1997. Lead Phytoextraction: Species Variation in Lead up Take and Translocation. *New Phytologist*. 134: 75–84.
- Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. 2000.
- Jian wei W., Chen J., William R., Cunningham, R. 1997. Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31, 800-805.
- Jing Y., He Z., Yang, X. 2007. Role Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soil. *Journal Zhejiang Univ. Sci. B.*, 8: 192-207.
- Kabata, A., H. Pendias. 1992. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC. Press, Inc. Boca Ratón, Florida. 315 p.

- Kabata-Pendias, A. 2000. Trace Elements in Soils and Plants. Third Edition. CRC Press, Inc. Boca Raton. USA. pp. 365, 413.
- Kramer U. 2005. Phytoremediation: Novel Approaches to Cleaning up Polluted Soils. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 133–141.
- Krarup, C., Moreira, I. 1998. Hortalizas de Estación Fría. Biología y Diversidad Cultural. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago. pp. 130–133.
- Kumar N. P. B. A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. 1995. Phytoextraction: the Use of Plants to Remove Heavy Metals From Soils. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1232–1238. Consultado el 09 de marzo del 2015 en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992011000400008&script=sci_arttext
- Lasat, M. M. 2002. Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms. *Journal of Environmental Quality.* 31(1): 109-120.
- León, G. 1997. Evaluación de Cuatro Cultivares de Espinaca (*Spinacia oleracea* L.) en Dos Épocas de Cultivo, Como Materia Prima Para Congelado Viroflay, Condesa, Shasta y Royalty. Tesis Ing. Agr. Universidad de Talca. Facultad de Ciencias Agrarias. Chile. 65 p.
- LeStrange, M.; Koike, S.; Valencia, J., Chaney, W. 2001. Spinach production in California. (On Line). University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. 20 nov. 2003.
- Mahaffey K.R., Rosen J.F., Cheney R.W., Peeler J.T., Smith C.M., De Luca. 1982. Association Between age, Blood Lead Concentration, and Serum 1, 25 Dihydroxycholecalciferol Levels in Children. *Am J. Clin. Nutr.* 35: 1327-1331.

- Marín, C. 1999. Curso Hortalizas de Hoja. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Carillanca. Serie Carillanca N° 76. Temuco, Chile. pp. 9-12.
- Maroto, J. 1989. Horticultura Herbácea Especial. Madrid, España. Mundi prensa. 343 p.
- Martín, C. W. 2000. Heavy Metals Trends in Flood Plain Sediments and Valley Fil. *Catena* 39, 53-68.
- McBride, M. 1994. Environmental Chemistry of Soils. Oxford University New York, US. S.P.
- Meagher, R. B. 2000. Phytoremediation of Toxic Elemental and Organic Pollutants. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 153-162.
- Meléndez, Gloria. 2003. Residuos Orgánicos y Materia Orgánica del Suelo. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. Taller de Abonos Orgánicos.
- Mench, M., Schwitzguebel, J., Schroeder, P., Bert, V., Gawronski, S., Gupta, S. 2009. Assessment of Successful Experiments and Limitations of Phytotechnologies: Contaminant Uptake, Detoxification and Sequestration, and Consequences for Food Safety. *Environmental Science and Pollution Research* 16, 876-900.
- Mushak P., Davis J, M., Crocetti A. F., Grant L. D. 1989. Prenatal and Postnatal Effects of Low-Level Lead Exposure. *Environ. Res.* 50: 11-36.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147- SEMARNAT/SSA1-2004. Que Establece Criterios Para Determinar las Concentraciones de Remediación de Suelos Contaminados por Arsénico, Bario, Berilio, Cadmio, Cromo Hexavalente, Mercurio, Níquel, Plata, Plomo, Selenio, Talio y/o Vanadio

- Nriagu, G. 1979. Global Inventory of Natural and Anthropogenic Emissions of Trace Metals to the Atmosphere. *Nature*; 279: 409-411.
- Pagnanelli, F., Moscardini, E., Giuliano, V., Toro, L. 2004. Sequential Extraction of Heavy Metals in River Sediments of an Abandoned Pyrite Mining Area: Pollution Detection and Affinity Series. *Environmental Pollution*, 132, pp. 189-20.
- Pallavi, S., Rama, S. D. 2005. Lead Toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17(1): 35-52.
- Petrovic, M., M. Kastelan, A. J. M. Horvat. 1999. Interactive Sorption of Metal Ions and Humic Acids Onto Mineral Particles. *Water, Air and Soil Pollution*, 111 (1- 4):43-56.
- Pineda, H. R. 2004. Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares y Contribución de Glomus Intraradices en la Absorción y Translocación de Cinc y Cobre en Girasol (*Helianthus Annuus L.*) Crecido en un Suelo Contaminado con Residuos de Mina. Tesis para Obtener el Grado de Doctor en Ciencias Universidad de Colima. Tecoman, Colima.
- Prasad, M. N. V., H, M. Freitas. 2003. Metal Hyperaccumulation in Plants Biodiversity Prospecting for Phytoremediation Technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3): 285-321.
- Raskin, I., Smith, R., Salt, D.E. 1997. Phytoremediation of Metals: Using Plants to Remove Pollutants From the Environment. *Current Opinion in Biotechnology*, 8221-8226.
- Robinson B., Schulin R., Nowack B., Roulier S., Menon M., Clothier B., Green S., Mills T. 2006. Phytoremediation for the Management of Metal Flux in Contaminated Site. *Snow Landsc. Res.*, 80: 221-234.

- Rodríguez O., J. C., Rodríguez, F. H., Lira R.G., De la Cerda, JM., Lara M., J.L. 2006. Capacidad de Seis Especies Vegetales Para Acumular Plomo en Suelos Contaminados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29:239-245.
- Rodríguez, R., García C. A. 2006. Los Residuos Minero-Metalúrgicos en el Medio Ambiente. Ediciones–Madrid: Instituto Geológico y Minero de España.
- Rubatzky, V., Yamaguchi, M. 1997. *World Vegetables. Principles, Production and Nutritive Values*. 2nd ed. New York. Chapman and Hall. 843 p.
- Saad, I., Castillo, J. I., Rebolledo, D. 2009. Fitorremediación: Estudio de Inteligencia Tecnológica Competitiva. Memorias del 4° Congreso Internacional de Sistemas de Innovación para la Competitividad: Hacia la Inteligencia Competitiva. León, Guanajuato, México.
- Sahi, S. V; Bryant, L. N; Sharma, N. C., Singh, S. R .2002. Characterization of a Lead Hyperaccumulator Shrub, *Sesbania drummondii*. *Environmental Science & Technology* 36 (21), 4676-4680.
- Salisbury, F., Ross, C. 1994. *Fisiología Vegetal*. 4ª ed. Mexico D.F., México. 75 p.
- Salt D. E., R. D. Smith, I. Raskin. 1998, *Phytoremediation*, Annual Reviews, 49, 643-668.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. 1995. Phytomeremediation: a Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. *Nat. Biotechnol.* 13, 468-475.
- Sauve, S., Henderson, W., Allen, H. E. 2000. Solid Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden, and Organic Matter. *Environmental Science Technology*, 34:1125–1131.

- Saval, B. S. 1995. Acciones para la Remediación de Suelos en México. Segundo Minisimposio Internacional Sobre Contaminantes del Agua y Suelo. Instituto de Ingeniería. UNAM, México.
- Serrano, Z. 1977. Cultivo de la Espinaca. Publicaciones de Extensión Agraria. Ministerio de Agricultura. Madrid. España. 65 p.
- Sharma, P., Dubey, R. S. 2005 Lead Toxicity in Plants Brazilian Journal Plant Physiology 17:1 35-52..
- Singh, O. V. S., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination from Soil. Applied Microbiology and Biotechnology. 61 405-412.
- Stevenson, F.J. 1994. Humus Chemistry. Genesis, Composition. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Thornton I., Davies D. J. A., Watt J. M., Quinn M. J. 1990. Lead Exposure in Young Children from Dust and Soil in the United Kingdom. Environ. Health Perspect. 89, 55-60.
- Torres A. O; Ocañas, G. L; Moya, A. V; Bernal, H. M. A; Piñeyro L. A. 2001. Contaminación Ambiental y Salud. Parte I. Plomo: Exposición en niños y la Importancia de su Detección. Ciencia UANL. 4 (1): 76-81.
- Ulery A. L., R. Parra, M. P. Elless, M. J. Blaylock. 2008. Transient Phytoextraction Agents: Establishing Criteria for the Use of Chelants in Phytoextraction of Recalcitrant Metals, International Journal of Phytoremediation, 10, 415-429.
- Valadez, A. 1993. Producción de Hortalizas. 3rd ed. D.F México, México. Limusa. 295 p.

- Valdés, P. F. 1999. La Contaminación por Metales Pesados en Torreón Coahuila. En defensa del Ambiente A.C. Torreón Coahuila.
- Van Deuren, J. Z., Wang, Z., Ledbetter, J. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide 3^a. Ed. Technology innovation office, EPA.
- Vázquez, M. D. 2003. Uso de Especies Vegetales para Controlar Ambientes Contaminados. Profesora del Departamento de Biología Animal, Vegetal y Ecología, Unidad de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- Vergara, A. 1999. Desechos Tóxicos en Chile. Revista Electrónica de Ciencia Abierta. Julio. Universidad Católica de Chile.
- Visser, S. A. 1985. Physiological Action of Humic Substances on Microbial Cells. Soil Biol. Biochem. 17:457-462.
- Volke S. T., Velasco T. J. 2002. Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados., Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT).
- Volke, S. T., Velasco Trejo, Juan, A., de la Rosa Pérez D. A. 2005 Suelos Contaminados por Metales y Metaloides: Muestreo y Alternativas para su Remediación. Instituto Nacional de Ecología - Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (INESEMARNAT). 141 pp.
- W.H.O. 1992. Our Planet our Health. Report of the W.H.O. Commission on Health and Environment.
- Wasay, S. A., Barrington, S.F., Tokunaga, S. 1998. "Remediation of Soils Polluted by Heavy Metals Using Salts of Organic Acids and Chelating Agents". Environmental Technology, 19: 369-379.

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

Páginas Web

http://es.wikipedia.org/wiki/Spinacia_oleracea

http://mct.dgf.uchile.cl/AREAS/medio_mod1.1.htm

<http://www.autismomexico.com/index.php/metales-pesados/48-edta/89-edta>

<http://www.smart-fertilizer.com/articulos/interpretacion-analisis-suelos>

http://www.uclm.es/area/ing_rural/Proyectos/AntonioPavon/05-AnejosIII.pdf